

G. Schulte

1962



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554408_0045

Aus der Universitäts-Frauenklinik
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
Direktor: Professor Dr. Schwalm

BEITRAG ZUM BIOLOGISCHEN ADIURETIN-NACHWEIS
BEI NORMALEN SCHWANGERSCHAFTEN
UND SCHWANGERSCHAFTSTOXIKOSEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

GUNHILD SCHULTE

aus Simmern



MAINZ

1960

Referent: Professor Dr. V. Friedberg

Korreferent: Professor Dr. K. Thomsen

Dekan: Professor Dr. H. Bredt

Tag der mündlichen Prüfung: 6. Juni 1962



GESAMTHERSTELLUNG:

DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstraße 64-66

Die Adiuretinforschung hat in den letzten Jahren das wissenschaftliche Interesse in steigendem Maße beansprucht. Vor allem war man bemüht, verschiedenartige Methoden zu entwickeln, die einen Adiuretinnachweis ermöglichen. Ein solches Verfahren hat Buchborn in seiner Arbeit "Ein quantitativer biologischer Adiuretin-(Vasopressin)-Nachweis an der Erdkröte" ausgearbeitet.

Die vorliegende Arbeit fußt auf der Buchborn'schen Methode, die angewandt wird, um den quantitativen biologischen Adiuretinnachweis an der Kröte in einer gestuften Testreihe mit Vasopressin-Reinsubstanz zu erbringen, und die zusätzlich den Adiuretingehalt im menschlichen Blut zu ermitteln versucht. Die vorliegende Arbeit soll nun prüfen, ob die oben genannte Methode auch für einen Adiuretinnachweis im menschlichen Blut relevant ist oder nicht. Hierzu wurde sowohl das unverdünnte Serum als auch das verdünnte Plasma von Nichtschwangeren, Normalschwangeren, Schwangerschaftstoxikosen und von Volhard'schen Verdünnungs- und Konzentrationsversuchen benutzt.

Über die Chemie des Adiuretins

Bis zu den entscheidenden Veröffentlichungen von du Vigneaud et al 1953 (123, 124) herrschten über die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Hypophysenhinterlappenhormone noch unsichere Kenntnisse. Erstmals war es 1928 Kamm und Mitarb. (70) im Anschluß an eine Arbeit von Dudley (38 a) gelungen, aus rohem Hypophysenhinterlappenextrakt zwei biologisch verschieden wirksame Substanzen zu gewinnen. Kamm bezeichnete die eine Substanz wegen ihrer blutdrucksteigernden Wirkung als Vasopressin und die andere als Oxytocin. Letztere bewirkt die Wehentätigkeit des Uterus, und ihre Bestimmung erfolgt daher in kontrollierter Nährlösung am Uterus jungfräulicher Meerschweinchen. Außerdem hatte man beobachtet, daß das Vasopressin auch noch eine antidiuretische Funktion ausübte und versuchte daher mittels Elektrophorese und Papierchromatographie ein chemisch verschiedenes, sogenanntes "antidiuretisches Hormon" von ihm abzutrennen (61, 71, 110, 111), was aber nicht möglich war.

Auf Grund der Forschungen von du Vigneaud und Mitarb., denen es nicht nur gelang, ein sehr reines Hinterlappenhormon zu gewinnen, sondern gleichzeitig die Konstitutionsformel für Adiuretin-Vasopressin zu ermitteln und eben-

falls deren Synthese durchzuführen, war endgültig bewiesen, daß die beiden Funktionen - gesteigerte Wasserrückresorption und Blutdrucksteigerung - durch einen Wirkstoff ausgeübt werden und somit nicht substantiell voneinander zu trennen sind. Das Vasopressin-Adiuretin ist ein wasserlösliches Polypeptid und gehört zur Gruppe der Proteohormone. Aus rohen Hinterlappenextrakten wird es durch Aussalzen oder durch alkoholische Fällung von den niedrigmolekularen Beimengungen getrennt. Von den höhermolekularen Eiweißen kann es durch kombinierte Elutions- und Fällungsmethoden isoliert werden. Die Trennung vom Oxytocin erfolgt durch Elektrophorese (68) und bestimmte Fällungs- und Adsorptionsverfahren, bei denen sich die beiden Substanzen unterschiedlich verhalten. Nach du Vigneaud und Mitarb. (121, 122) bestehen die beiden Hinterlappenwirkstoffe aus je einem Teil von 8 verschiedenen Aminosäuren (d.h. sie sind Oktapeptide) und aus 3 Teilen Ammoniak in Amidbindung. Das Vasopressin tendiert wegen seines Arginingehalts stärker zum Basischen als das Oxytocin. Die hauptchemischen Charakteristika des Vasopressins sind sein Molekulargewicht mit wenig über 1000, sein isoelektrischer Punkt, sein Absorptionsspektrum und seine Amino-Acid-Zusammensetzung.

Infolge der verschiedenen Herstellungsmöglichkeiten des antidiuretischen Hormones läuft dieses auch in der Literatur unter mehreren Bezeichnungen. Die wichtigsten sollen hier kurz noch definiert werden:

Antidiuretisches Hormon (ADH) wird angewandt für das antidiuretische Prinzip der Neurohypophyse, gleich, ob im Gehirn, im Blut oder im ausgeschiedenen Urin vorkommend.

Natural Vasopressin: das höchst gereinigte Octapeptid mit vorherrschend antidiuret. - vasopressorischer Wirkung, das von du Vigneaud et al. aus dem HHL von Ochsen und Schweinen isoliert wurde (Arginin- und Lysin-Vasopressin).

Synthetische Vasopressine: die synthetischen Substanzen, die man mit dem Arginin- und Vasopressin als identisch ansieht, einschließlich dem Leucin-Vasopressin.

Pitressin: ein teilweise gereinigtes im Handel befindliches Präparat, das aus den "acetic-acid" Extrakten des HHL von Ochsen und Schweinen hergestellt wird, mit vorwiegend antidiuretisch-vasopressorischer Wirksamkeit. (Pitressin wurde viel für die Standardisierung und die pharmakologischen Studien der HHL-Extrakte verwandt).

Pitocin und Pituitrin: teilweise gereinigte Handelspräparate mit vorwiegend oxytocinischer und antidiuretischer Wirkung.

Bartlett (6) hat in einer ausführlichen Arbeit die synthetischen Vasopressine

und Drüsenpräparate verglichen, mit dem Ergebnis, daß sie sich in ihrer biologischen Wirksamkeit nicht unterscheiden. Auch zeigen das Naturhormon und die synthetischen Stoffe dasselbe infrarote Spektrum.

Bildungsstätte des Adiuretins

Anhand zahlreicher klinischer Beobachtungen (74, 1, 41) und der Ergebnisse physiologischer Experimente (10, 55, 79 a) konnte festgestellt werden, daß das Adiuretin mit Hypophyse und Hypothalamus in Zusammenhang stehen muß. Dabei wurden anfänglich drei verschiedene Theorien für die Bildungsstätte des Hypophysenhinterlappen-Hormons aufgestellt:

1. in den basophilen Zellen der Adenohypophyse im Bereich des Hypophysenhinterlappens,
2. in den Pituizyten des Hypophysenhinterlappens (97) und
3. in den nuclei supraoptici et paraventriculares des Hypothalamus.

Die dritte Theorie, die Scharrer bereits 1928 (99) vorgeschlagen hatte, ist durch die umfassenden Untersuchungen von Gaupp jr., Scharrer und Gaupp (98, 48), Hild (65) und besonders von Bargmann (4) als zutreffend bewiesen worden. Nach der Meinung von Gaupp jr. (1944) sollte das antidiuretische Hormon von den Nervenendgeflechten des Hypophysenhinterlappens - die die Endausbreitung der vom nucleus supraopticus und paraventricularis durch den Hypophysenstiel zum Hinterlappen entsandten Nervenzellfortsätze darstellen - abgesondert werden. Die Verbindung zwischen Hypothalamus und Hypophyse ist der sogenannte tractus hypothalamo-hypophyseus. Außerdem ergaben die Arbeiten von Scharrer (1937) sowie Scharrer und Gaupp (1933), daß in den Zwischenhirnkernen eine Neurosekretion stattfindet; sie stellten eine Kolloidbildung in den Ganglienzellen fest. Diese beiden Beobachtungen führten zu der Vermutung, daß ein Stofftransport von den Zwischenhirnkernen zum Hypophysenhinterlappen stattfindet, und somit der tractus hypothalamo-hypophyseus als neurosekretorische Bahn angesehen werden kann. Diese Hypothese hat Bargmann (1949) durch seine histologischen Experimente von Hypothalamus und Neurohypophyse des Hundes und der Katze bestätigt. Es gelang ihm, mit Hilfe der von Gomori (1941) (53) entwickelten Färbung mit Chromalaunhämatoxylin-Phloxin eine Methode zu finden, die es ihm ermöglichte, den marklosen tractus hypothalamo-hypophyseus vom nucleus supraopticus bis in die Neurohypophyse hinein elektiv darzustellen. Dabei konnte er feststellen, daß in den großen Ganglienzellen des nucleus supraopticus und paraventricularis ein granuläres

Sekret (mit der Gomorifärbung dunkelblau erscheinend) gebildet wird, und zwar in umgekehrt proportionalem Verhältnis der Menge zur vorhandenen Nisslsubstanz. Das körnige Sekret konnte nicht nur in dem Zelleib nachgewiesen werden, sondern auch in den Zellausläufern, wo es hauptsächlich in der Außenzone der Axone angetroffen wurde. Weiterhin war es zu verfolgen durch den Hypophysenstiel bis in den Hypophysenhinterlappen, wo in der Nachbarschaft der Blutgefäße und an der Grenzfläche zur pars intermedia auffallend viel sekrethaltige Nervenfasern beobachtet wurden. Vereinzelte Granula konnten sogar zwischen den Epithelzellen der pars intermedia und tuberalis gezeigt werden.

Auf dem eben beschriebenen Weg vom Hypothalamus über den tractus hypothalamo-hypophyseus zum Hypophysenhinterlappen wurde das granulierte Sekret nicht in gleichmäßiger Verteilung angetroffen, sondern in aufeinanderfolgenden knötchenförmigen Anschwellungen. In der Literatur hat man dafür den Begriff des Perlschnurbildes gewählt. In diesem Zusammenhang konnte Bargmann auf Grund seiner Gomori-Methode feststellen, daß die schon früher in der Literatur beschriebenen sogenannten "Herringkörper", deren Entstehung bisher ungeklärt war, nichts anderes sind, als besonders dicke Anschwellungen in der Perlenschnur oder an deren Endausbreitung.

Auf Grund dieser morphologischen Erkenntnisse Bargmanns gelang es seinem Schüler Hild (65) zwei Jahre später zu zeigen, daß die beobachteten Sekretgranula vom Hypothalamus zur Hypophyse wandern. Hild konnte diesen Stofftransport am Frosch nachweisen, indem er kurze Zeit nach Durchschneidung des Hypophysenstiels eine Anreicherung von der gomoripositiven Substanz im proximalen Stumpf des Hypophysenstiels beobachtete, während die Sekretmenge im distalen Stumpf immer mehr abnahm. Ortman (89) hat dieses Transportsystem auch für die Ratte mit Hilfe der Gomorimethode bestätigen können.

Die von Bargmann (1949) auf Grund der Versuche Ransons und Verney aufgestellte Vermutung, daß es die gomoripositiven Substanzen sind, die innerhalb des hypothalamisch-hypophysären Systems den Wasserhaushalt beeinflussen, konnte durch die entscheidenden Tierversuche von Ortman (1950) und Hild und Zetler (1953) bewiesen werden. Sie zeigten, daß die Neurohypophyse und das Transportsystem im Hypothalamus nach längerer Dehydrierung an gomoripositiver Substanz fast ganz verarmt, d.h. wenn der Umsatz von antidiuretischem Hormon im Organismus besonders groß sein muß. In entsprechender Weise wurde bei einer ständigen Hydrierung der Tiere eine auffäl-

lige Anreicherung des granulären Materials beobachtet. Man konnte z.B. nach 9 Tage langer Wasserbelastung beim Hund eine sehr starke Ansammlung von Neurosekrettropfen dem tractus hypothalamo-hypophyseus entlang beobachten, während dagegen die Zellen in den Zwischenhirnkernen ihre gomoripositive Substanz fast ganz verloren.

Durch die Versuche von Bargmann und seinem Mitarbeiter ist somit der Nachweis geführt worden, daß das gomoripositive Sekret im nucleus paraventricularis et supraopticus gebildet wird und zur Hypophyse via tractus hypothalamo-hypophyseus zum Hypophysenhinterlappen transportiert wird, der nur als Lagerungsstätte und Freilassungszentrum anzusehen ist. Weiterhin ist beobachtet worden, daß dieses Sekret bei Veränderungen im Wasserhaushalt morphologisch faßbare Mengendifferenzen zeigt, und zwar im Sinne der Funktion des antidiuretischen Hormons. Ob das dargestellte neurosekretorische Material mit dem Adiuretin identisch ist, oder ob es nur ein Vorläufer desselben, beziehungsweise eines der beiden Hormonpeptide ist, konnte bisher noch nicht geklärt werden.

Physiologische Bedeutung des Adiuretins

Es ist heute bekannt, daß unter den endokrinen Faktoren, die für die Steuerungsvorgänge im Wasserhaushalt und die Funktion der Nieren eine Rolle spielen, das Adiuretin eine zentrale Stellung einnimmt. Schon 1925 konnte im wesentlichen durch die umfassenden Untersuchungen von Starling und Verney (109) sowie von Poulssen (1930) (92) gefolgert werden, daß der Angriffspunkt des Adiuretins am tubulären Teil des Nephrons zu suchen ist. Sie stellten fest, daß das Hypophysenhinterlappen-Hormon die Tubuli der Nieren zur verstärkten Wasserrückresorption anregt und damit wohl seinen antidiuretischen und wasserersparenden Effekt bewirkt. Diese Erkenntnis konnte von Smith (106) und Walker und Mitarb. (126) noch dahin erweitert werden, daß das Adiuretin nicht allgemein die Wasserrückresorption beeinflusst, sondern nur am distalen Tubulus den sogenannten "fakultativen Anteil". Es sind ungefähr 20 l von den täglich filtrierten 180 l Primärharn. Die übrigen 150 bis 160 l gelten als die sogenannte "obligate" Wassermenge und werden im proximalen Tubulus rein passiv rückresorbiert (107). Durch eine Zunahme der Adiuretinaktivität ist also der Organismus in der Lage, das Ausmaß des im distalen Tubulus zurückgeholten Wassers zu erhöhen und damit die Menge der nach außen abgegebenen und folglich für den Körper verlorenen Flüssigkeit zu vermindern. In Gegenwart des Adiuretins wird ein sehr konzentrierter Urin mit kleinem Volu-

men, in seiner Abwesenheit ein sehr verdünnter Urin mit großem Volumen gebildet (103).

Eindrucksvoll wird die wassersparende Wirkung des Adiuretins durch Versuche von Gersh (48 a) gezeigt, aus denen hervorgeht, daß bei auf Trockenkost gesetzten Tieren (Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen) die Menge der in der Neurohypophyse gestapelten antidiuretischen Substanz merklich abnimmt.

Es wäre hier von Interesse, etwas über den Hintergrund der Verdünnungs- und Konzentrationsprozesse, die sich offensichtlich in den Tubuli abspielen, zu erfahren. Zur Klärung dieses Geschehens sind hauptsächlich zwei Annäherungsversuche bekannt; der eine, vor allem von H. Smith (108) angewandt, ist mehr indirekt und basiert auf den Clearance-Studien; der andere, von Walker et al. (126) und Wirz (129) entwickelt, beruht auf Mikropunktionen der Tubuli. Letzterer ist der direkte Weg, obwohl bei ihm berücksichtigt werden muß, daß die Punktion selbst hydrodynamische Veränderungen in dem tubulären Segment verursachen könnte. Dennoch scheinen die Studien von Walker et al. (126) über die Zusammensetzung der tubulären Flüssigkeit in den verschiedenen Segmenten des Nephrons zuverlässige Ergebnisse zu vermitteln; er fand, daß während der Antidiurese der Urin in den proximalen Tubuli der Ratten isotonisch mit dem Plasma ist, während in den distalen Tubuli Hypotonisität herrschte. Diese Befunde konnten ganz von Wirz (129) bestätigt werden. Er verfeinerte das Verfahren noch weiter, so daß es ihm möglich wurde, auch während der Wasserdiurese Punktionen der distalen Tubuli vorzunehmen, was zu folgenden Befunden führte:

1. Während einer Wasserdiurese ist der Urin in den proximalen Tubuli auch isotonisch und in den distalen Tubuli hypotonisch.
2. Während endogener Antidiurese ist der Urin in den proximalen Tubuli noch isotonisch, aber in den distalen Tubuli ist er hypotonisch an deren Anfang und isotonisch am Ende.

Ferner konnten Wirz et al. (127, 128) beweisen, daß, beginnend bei dem Inhalt der Henleschen Schleifen, weiter zu dem der Kapillaren, der extrazellulären Flüssigkeit und der sammelnden Gänge im Bereich der Rinden-Mark-Grenze gegen die Papillenspitze, ein stetiger Anstieg im osmotischen Druck besteht. Wirz et al. versuchten, sich diese Art der Urinkonzentration nach der Theorie des in der Literatur beschriebenen "Hairpin-Counter-Current-Systems" zu erklären (58).

Außerdem zeigten die Wirz'schen Experimente noch ein weiteres interessantes Ergebnis: der während der Wasserdiurese am Ende des distalen Tubulus

entnommene Urin war nicht ganz so hypotonisch wie der Ureter-Urin. Damit erhebt sich die Frage, ob dieser Befund eine weitere Lösungsresorption am Anfang der sammelnden Gänge ansagt, oder ob er auf eine etwas verschiedene Verdünnungskapazität der einzelnen renalen Einheiten zurückzuführen ist, da der Ureter-Urin das Produkt von einigen 30 000 Nephronen darstellt.

Inwieweit das ADH sich nun an dem Konzentrierungsmechanismus der sammelnden Tubuli beteiligt, ist noch ungeklärt. Handelt es sich bei den Vorgängen um einen aktiven Wassertransport, wie von Smith et al. (107, 108) vermutet wird, oder beruht das ganze auf der Basis eines einfachen physikalisch-chemischen Mechanismus, wie von Wirz et al. (128, 127) angenommen wird? Allgemein steht von der Art und dem Ort der Adiuretin-Wirksamkeit fest, daß es im distalen Tubulus als Haupteffekt die Permeabilität gegenüber Wasser vergrößert. Das Ausmaß der dadurch bedingten Reduktion im tubulären Flüssigkeitsvolumen ist leider nicht bekannt, da Wirz in seinen Experimenten während der Diurese und Antidiurese nur die Osmolaritätsveränderungen der tubulären Flüssigkeit prüfte.

Nach dem heutigen Wissensstand müssen im Zusammenhang mit dem Adiuretin auch die Mineralo-Glucocorticoide der Nebennierenrinde betrachtet werden, denn eine Reihe von Autoren (103, 56) sehen in diesen beiden Hormonsystemen eine gegenseitige Regulierung, die für den Wasser- und Salzhaushalt nicht ohne Bedeutung bleibt.

Bekanntlich vollzieht sich unter dem Einfluß des Aldosterons (104) im distalen Tubulus die fakultative Natriumrückresorption im Austausch gegen Kalium- und Wasserstoffionen (91), während die übrigen Salzmenngen schon vorher im proximalen und ersten Drittel des distalen Tubulus obligatorisch rückresorbiert werden. Außer am Tubulus wirkt das Aldosteron auch an der Colonschleimhaut (40) und an den Speichel- und Schweißdrüsen (9) hemmend auf die Natriumelimination. Auch an den Zellmembranen fördert es die Austauschreaktion von Natrium gegen Kalium- und Wasserstoffionen, was bedeutet, daß bei einer Aldosteronüberproduktion das Kalium aus der Zelle verdrängt wird, wofür das Natrium in verstärktem Maße einwandern kann. (Da ein $m\text{Val Na}$ - etwa 23 mg Na - ungefähr 6 g Wasser bindet, spielt das Aldosteron indirekt auch eine Rolle für die Regulierung des Wasserhaushalts).

Die Glucocorticoide stehen nun als Mittler zwischen dem wassererhaltenden Adiuretin und dem salzregulierenden Aldosteronmechanismus. Sie können je nach dem Stand des Wasser-Salz-Haushalts diuretisch oder natriuretisch wirken. Herrscht im Körper eine Mehrinkretion des antidiuretischen Hor-

mons, so hemmen die Glucocorticoide die ADH-Ausschüttung und verursachen darüber hinaus eine beschleunigte Inaktivierung des im Blut kreisenden Adiuretins (45, 46, 26). Außerdem bewirken sie durch direkten Angriff an der Niere über Erhöhung der Filtrationsrate eine vermehrte Flüssigkeitsausscheidung (30). Handelt es sich dagegen als Folge einer Aldosteronüberproduktion um eine intrazelluläre Natriumanreicherung, so stellen die Glucocorticoide die normale intra- und extrazelluläre Natrium- und Kaliumverteilung wieder her und wirken somit natriuretisch (28, 114, 113).

Die normale Kontrolle des Natrium- und Wasserhaushaltes durch das ADH des Hypophysenhinterlappens und des Aldosterons der NNR könnte in einem vereinfachten Schema (103) folgendermaßen zusammengefaßt werden: Nach Salzzufuhr oder vermehrter Aldosteroninkretion steigt die Salzkonzentration im Plasma an. Hierdurch wird das Zwischenhirnsystem über Osmorezeptoren zur vermehrten ADH-Ausschüttung angeregt. Unter dem Einfluß des ADH wird dann sekundär im distalen Tubulus Wasser rückresorbiert und ein sehr konzentrierter Urin gebildet. Das rückresorbierte Wasser erniedrigt die Salzkonzentration des Plasmas und führt somit zu einer Bremsung der ADH-Ausschüttung. Durch das vermehrte rückresorbierte Wasser wird auch gleichzeitig das extrazelluläre Volumen vergrößert und hierdurch die Aldosteroninkretion gebremst, wodurch sekundär Natriurese eingeleitet wird. Die Aldosteroninkretion ist nämlich von der Höhe der Na-Konzentration im Plasma und den Schwankungen im Blut und extravasalen Volumen abhängig (7, 131, 43). Brunner und Kuschinsky (77), sowie Herken et al. (63) konnten im Tierversuch zeigen, daß bei hoher extrazellulärer Natriumkonzentration das Adiuretin natriuretisch wirkt, dagegen ist Heller (62) der Meinung, daß dem ADH keine physiologische Rolle im Mineralstoffwechsel zukommt.

Um der zwischen Hypophyse und Nebennierenrinde vermuteten Beziehung näher zu kommen, sind eine Reihe von Experimenten sowohl am adrenaletomierten als auch am hypophysektomierten Tier durchgeführt worden. Dabei zeigte sich eine verzögerte Wasserausscheidung des nebennierenlosen Tieres, und es wurde verschiedentlich versucht, diese auf ein gestörtes Gleichgewicht zwischen den Wirkstoffen der Nebennierenrinde und der Neurohypophyse zurückzuführen im Sinne eines Überwiegens von ADH und einer dadurch bedingten übermäßigen Steigerung der tubulären Rückresorption von Wasser (105, 46). In früher veröffentlichten Befunden von Birnie (11, 13, 14) ist auch schon beschrieben, daß im Blut adrenaletomierter Ratten vermehrt antidiuretisch wirkende Stoffe vorhanden seien. Obwohl sich diese Ergebnisse nicht in jeder Hinsicht bestätigen ließen, konnte doch gezeigt werden, daß ADH bei Anwe-

senheit von Cortisol offenbar rascher inaktiviert als beim Fehlen dieses Hormons. Gaunt et al. (47) führten Versuche durch, bei denen das adrenaletomierte Tier in Form von Pitressin injiziertes ADH nur etwa halb so schnell zerstört wie das intakte Tier und durch Cortison oder Cortisol war diese Verzögerung teilweise zu verhindern. Cortison und Cortisol sind sogar imstande, an gesunden Ratten in einem bestimmten Dosenbereich die wasserretinierende Wirkung von Pitressin nicht nur aufzuheben, sondern die Diurese - verglichen mit dem nichtbehandelten Tier - zu fördern, während Aldosteron oder Cortexon diesen Effekt nicht zeigten. Dexter und Stoner (32) schlossen aus ihren Versuchen, daß bei normal adrenaletomierten Ratten Cortison ebenfalls die Wasserdurese vergrößert. Dagegen führten Kuschinsky et al. (76) Versuche an adrenaletomierten und hypophysektomierten Ratten durch, und sie fanden eine etwa gleiche Verzögerung der Wasserausscheidung, so daß die Ursache dafür nicht in einer gehemmten Zerstörung des antidiuretischen Hormons liegen kann. Hypophysenlose Ratten scheiden nach Wasserbelastung schlechter aus als nach Gabe isotonischer Kochsalzlösung, wobei die Diuresegeschwindigkeit durch Cortexon und Cortisol zwar verbessert, aber nicht normalisiert wird (77).

Auch aus anderen Befunden gehen funktionelle Zusammenhänge zwischen Nebennierenrinde und Neurohypophyse hervor. So zeigten Gaunt et al., daß Cortison und Cortisol auf die Freisetzung von ADH hemmend wirkt. Ebenfalls machten sie beim adrenaletomierten, dehydrierten Tier die Feststellung, daß nach einer Cortisolbehandlung der Hypophysenhinterlappen reicher an neurosekretorischem Material ist als vorher. Cavallero et al. (26) fanden bei Ratten nach Adrenaletomie eine Verarmung des Hypophysenhinterlappens an ADH, während es nach Salz oder Cortison-Gaben wieder zunahm. Dagegen besitzt Cortex keinen hemmenden Effekt auf die Ausschüttung von ADH.

Mit der Aufführung dieser verschiedenen Versuchsergebnisse sollte nur ein kleiner Einblick gegeben werden in die vielen Möglichkeiten für das antagonistische Wirken von Hypophysenhinterlappen und Nebennierenrinde. Leider herrscht über die ganzen Feinheiten dieses Regulationsmechanismus noch kein geschlossenes Bild.

Nachdem aber heute allgemein feststeht, daß es die Hauptaufgabe des Adiu-retins ist, den Organismus vor einer Verarmung an Wasser zu bewahren, müssen auch irgendwo im Körper Rezeptoren vermutet werden, die die H_2O -Konzentration der Körperflüssigkeit registrieren und bei drohender Erniedrigung

unter ein physiologisches Niveau eine vermehrte Abgabe von Adiuretin induzieren. Für die Aufdeckung solcher Rezeptoren erscheinen die von Verney (117, 118, 119, 120) durchgeführten Versuche, die die früheren Beobachtungen von Gillman und Goodman (50) sowie Chambers und Mitarb. (27) bestätigen, am geeignetsten. Verney ging dabei von der Annahme aus, daß die Steuerung der ADH-Sekretion durch den osmotischen Druck im Plasma des arteriellen Blutes erfolgen müßte. Es war daher für ihn von Interesse, die Wirkungen einer Steigerung des osmotischen Druckes im Karotis-Plasma auf die Nierenausscheidung während der Wasserdiurese zu beobachten. Zu diesem Zwecke injizierte er dem Hund hypertonsche Lösungen in die Arteria carotis, was eine eindeutige Hemmung zur Folge hatte und zwar war ihr Ausmaß abhängig von der osmotischen Konzentration der Lösung bei konstanter Injektionsgeschwindigkeit und -dauer, und von der Injektionsdauer bei gleichbleibender Menge und osmotischer Konzentration der Lösung. Die Wirkung nach einer Injektion von 21 ccm einer 2,5 %igen Kochsalzlösung innerhalb von 20 Sekunden in die rechte Karotis glich sehr einer i.v. Injektion von 0,001 E Hypophysenhinterlappenextrakt. Bei Tieren, denen vor der Injektion der hypertonschen Lösung die Hypophysenhinterlappen extirpiert worden waren, zeigte sich die charakteristische Diuresehemmung um etwa 90 % verringert. Ebenfalls ohne Wirkung blieben die Injektionen bei Unterbindung der Arteria carotis int. oder bei i.v.-Verabreichung.

Zur Prüfung, ob tatsächlich der Anstieg des osmotischen Druckes und nicht eine spezifische Substanz der auslösende Faktor für eine vermehrte Freilassung von ADH ist, wurde der Einfluß isoosmotischer Lösungen von Kochsalz verglichen. Sie zeigten ein gleiches Ergebnis, das bei der Auswertung etwa 0,0025 E ADH entsprach. Eine analoge Reaktion bewirkten kuzdauernde Injektionen hypertonscher Lösungen von Rohrzucker und Natriumsulfat. Dagegen ohne Effekt blieb die intracarotikale Verabreichung von Harnstoff, was Verney auf eine für diesen Stoff besonders hohe Durchlässigkeit der Membran der Osmorezeptoren zurückführt.

Die Tatsache, daß nach Unterbindung der Arteria carotis int. der antidiuretische Effekt fast ausblieb, gab Verney entscheidende Hinweise für die Lokalisation der Osmorezeptoren, und zwar ließ es ihn daran denken, daß das histologische Substrat der osmotischen Regulation in dem Bezirk liegen könnte, der zum Versorgungsgebiet dieses Gefäßes gehört, im Bereich des Nucleus supra-opticus.

Ausgehend von dieser Vermutung, fand Verney tatsächlich, daß das Zwischenhirn und speziell die supraoptischen Kerne als Zentrum der osmotischen

Regulation anzusehen sind, da er an diesen Stellen bei histologischer Kontrolle eigenartige, bläschenförmige Gebilde sah, die er als Osmorezeptoren auffaßte und die wahrscheinlich als die eigentlichen reflexogenen Endapparate interpretiert werden können. Damit wäre der Reflexbogen für das Freilassungssystem des Adiuretins bekannt.

Die Versuchsergebnisse Verneys, die für eine Korrelation von ADH-Plasmaspiegel und Serumosmolarität sprechen, wurden von Buchborn (22) sowohl für den Gesunden als auch hydropisch Herzkranken und Lebercirrhotiker bestätigt. Vor allem konnte er am Beispiel der chronischen Niereninsuffizienz mit verschiedenen Graden der Azotämie zeigen, daß die Diuresehemmung nicht von den Schwankungen der gesamten Osmolarität des Plasmas bestimmt wird, was Verney auch schon beobachtet hatte, als seine hypertonen Harnstoffinjektionen keine Diureseerscheinungen verursachten. Buchborn macht an Hand seiner Befunde die ADH-Ausschüttung aus dem Hypophysenhinterlappen nicht von der Höhe der Gesamtosmolarität des Serums abhängig, sondern vom "effektiven osmotischen Druck" desselben. Er definiert diesen Begriff als "die Differenz aus Gesamtosmolarität und Partialosmolarität der freidiffusiblen Nichtelektrolyte, vor allem des Harnstoffes" oder mit anderen Worten "der effektive osmotische Druck ist nicht abhängig von der Zahl aller gelösten Teile, sondern vom osmotischen Gradienten der nicht frei diffusiblen Partikelchen, also im wesentlichen der Elektrolyte zur intracellulären Flüssigkeit". Somit erfolgt also die Regulation der ADH-Ausschüttung durch den osmotischen Gradienten (Konzentrationsunterschied) zwischen Plasma und intrazellulärer Flüssigkeit, zur Konstanterhaltung einer optimalen intrazellulären osmotischen Konzentration, die die Vorbedingung für die Aufrechterhaltung der Lebensprozesse in der Zelle ist.

Es gibt nun noch eine Reihe von Versuchen, die beweisen, daß der spezifische Regulationsmechanismus für die Adiuretinfreilassung auch durch eine Anzahl anderer Reaktionen in Tätigkeit gesetzt werden kann; so wird z.B. eine ADH-Ausschüttung bewirkt durch Sinnes-Stimuli, wie Geräusch und Schmerz, durch chemische Stimuli wie Histamin und Nikotin, und durch emotionale Stimuli wie eine fremde Umgebung (81, 73, 54, 80, 17). Ferner untersuchte Eisen (39) den 24-Stunden-Urin nach chirurgischen Eingriffen, und er konnte dabei eine antidiuretische Wirkung feststellen. Mirsky (82) führte adrenalectomierten und hypophysektomierten, als auch mit Cortison behandelten, hydrierten und hypophysektomierten Ratten schmerzhaft Reize zu und beobachtete jedesmal eine Antidiurese. Er folgerte daraus, daß diese Reize mit einer direkten ADH-Ausschüttung ins Blut vom Hypothalamus aus beantwortet würden.

Die ADH-Ausschüttung bedingt durch Schmerzen ist von besonderer Wichtigkeit bei der Beurteilung der verschiedenen Adiuretin-Nachweis-Methoden, da sie, wenn die Injektion mit Schmerzen verbunden ist, eine wesentliche Fehlerquelle darstellt.

Im Rahmen der physiologischen Bedeutung des Adiuretins muß auch noch erwähnt werden, daß sein hormonaler Angriffspunkt nicht in allen Wirbeltierklassen derselbe ist (62, 74). Während bei den Säugetieren die Antidiurese auch vorwiegend durch Erhöhung der tubulären Wasserresorption erfolgt, ist dieser Mechanismus bei den Vögeln weniger ausgeprägt, stattdessen handelt es sich bei ihnen um eine Antidiurese infolge Nierengefäßverengung und damit Erniedrigung der Filtratmenge. Bei Reptilien und Amphibien ist der Erfolgsweg ähnlich. Darüber hinaus läßt sich bei den Amphibien noch eine extrarenale Wirkung des ADH feststellen, da es bei ihnen die Wasseraufnahme durch die Haut positiv beeinflusst. Diese Tatsache machte sich Buchborn unter anderem zunutze, indem er die Erdkröte als Testtier für seine ADH-Nachweis-Methode wählte.

Pathologisch-physiologische Bedeutung des Adiuretins

Bei vorübergehendem oder dauerndem Ausfall des Hypophysenhinterlappenhormons bietet sich eine eindrucksvolle Störung im Wasserhaushalt, die Diabetes insipidus genannt wird. Dieses Krankheitsbild ist durch 3 Kardinalsymptome gekennzeichnet: die Polyurie, die Polydipsie und das mangelnde Konzentrationsvermögen der Nieren für Kochsalz (69). Die ausgeschiedenen Harnmengen der Patienten mit Diabetes insipidus entsprechen ungefähr der Trinkmenge, wobei oft täglich bis zu 20 l Flüssigkeit und mehr aufgenommen werden. Das spezifische Gewicht des Harns ist ständig erniedrigt, es liegt meistens um 1000 und steigt selten über 1005 an. Die Glomerulumfiltration gemessen mit Kreatinin- oder Inulin-clearance ist dabei nicht wesentlich verändert, die Störung liegt am tubulären Apparat. Künstliche Zufuhr von Antidiuretischem Hormon kann die Insuffizienz beheben. Bei einem mittelgroßen Hunde genügt als Ersatztherapie die Injektion von 1,0 - 5,0 mE Vasopressin je Stunde (72), beim Menschen sind für den antidiuretischen Effekt etwa 0,1 mE Pitressin pro Minute erforderlich (26 a). Verney nimmt an, daß diese Dosen von ADH im gesunden Organismus laufend von dem Hypophysenhinterlappen abgegeben werden, um die normale Urinkonzentration zu ermöglichen.

Sowohl der experimentelle als auch der pathologisch-anatomische Diabetes

insipidus ist heute geklärt und zwar ist sein Auftreten gebunden entweder an eine Zerstörung des nucleus supraopticus oder eine Unterbrechung des tractus hypothalamo-hypophyseus oder an eine Vernichtung des Hypophysenhinterlappens selbst, was in einzelnen Fällen durch einen Tumor bedingt sein kann.

Es ist im Tierversuch möglich, durch Thyreoidektomie den Diabetes insipidus zu bessern, und zwar scheint das thyreotrope Hormon bei gleichzeitiger Zerstörung des Hypophysenvorderlappens einen lindernden Einfluß auf den Diabetes insipidus auszuüben. Ebenso konnte beobachtet werden, daß das ACTH wegen seiner Stimulierung der Nebennierenrinde im Rahmen der regulatorischen Vorgänge des Wasserhaushalts eine Rolle spielt.

Neben dem Diabetes insipidus gibt es eine Reihe anderer Krankheitsbilder, bei denen sich die Frage stellt, ob sie nicht mit einem vermehrten Vorkommen von ADH in Zusammenhang zu bringen sind. Besonders bei cardialem Hydrops, bei Lebercirrhosen mit Ascites, beim Morbus Addison und bei der Fettsucht soll eine antidiuretische Substanz in vermehrtem Umfang im Blut nachgewiesen worden sein. Vor allem hielt man die antidiuretische Substanz in Harn und Blut von Leberzirrhotikern für identisch mit dem Hypophysenhinterlappenhormon und glaubte, ihr vermehrtes Vorhandensein darauf zurückzuführen, daß die zirrhotisch veränderte Leber nicht mehr wie die gesunde in der Lage sei, mit Hilfe eines besonderen Enzymsystems ADH abzubauen (93). Diese Annahme ist jedoch anhand der Beobachtungen von White (130) in Zweifel zu ziehen, denn er konnte feststellen, daß die zirrhotische Leber das ADH mit gleicher Geschwindigkeit abbaut wie die normale. Zur Erklärung für die erhöhte ADH-Freisetzung wurde deshalb das Ferritin - ein eisenreiches Protein - diskutiert (102). Unter normalen Umständen wird dieses in der Leber und Milz in inaktiver Form gespeichert. Nun nimmt man an, daß es unter pathologischen Verhältnissen, die mit Wasserretention einhergehen, aktiviert wird und eine ADH-Ausschüttung anregt.

Immer wieder taucht in der Literatur die Behauptung auf (41, 96), daß es nicht nur einen Diabetes insipidus, sondern auch einen Antidiabetes insipidus oder primäre Oligurie gäbe, bei dem infolge übermäßiger ADH-Sekretion Oligurie und Adipsie führende Leitsymptome seien. Charakteristisch für diese Erkrankung sind die kleinen Harnmengen mit einem spezifischen Gewicht von 1030 und mehr, und gelegentlich auch das Auftreten von Ödemen, die nicht durch eine renale oder kardiale Komponente erklärt werden können. Auch in diesen Fällen wird gelegentlich über einen erhöhten ADH-Spiegel im Serum, Liquor oder Harn berichtet, doch genügen diese Befunde

noch nicht, um den sogenannten Antidiabetes insipidus als ein festumrissenes Krankheitsbild zu beschreiben. Ähnliche beobachtete Erscheinungen wie beim Antidiabetes insipidus zeigen sich nach einer Reizung des Zwischenhirns im Tierexperiment (49, 84).

Über die Frage, inwieweit bei Ödempatienten der vermehrte Wasseransatz auf eine gesteigerte ADH-Inkretion zu beziehen ist, herrschen noch geteilte Meinungen. Während Buchborn (23) anhand seiner quantitativen Bestimmung der an der Ödemgenese entscheidend beteiligten endokrinen Faktoren zu dem Ergebnis kam, daß vermehrtes ADH an der sekundär zur Na-Retention einsetzenden Wasserretention (Osmolaritätssteigerung führt zur ADH-Ausschüttung) mit beteiligt ist, glaubt Herken (64), daß gerade der Mangel an Vasopressin für die Pathogenese des Ödems von entscheidender Bedeutung ist. Herken demonstriert mit Hilfe von Natrium- und Wasserbilanzen an Tieren verschiedener Altersgruppen, daß die Zunahme der Na-Retention von einer Abnahme der Vasopressin-Synthese begleitet ist; demgegenüber führen die Versuche Buchborns - an über 100 gesunden und ödemkranken Personen - zu dem Ergebnis, daß ADH auch im Fall der Ödemkrankheit in Abhängigkeit von der Na-Konzentration, bzw. Osmolarität des Serums zu nachfolgender pathologischer Wasserspeicherung führt. Für den Widerspruch in den einzelnen Ergebnissen sind hauptsächlich 2 Gründe zu nennen:

1. Nicht jede antidiuretische Substanz ist mit dem Hypophysenhinterlappenhormon identisch.
2. Die zum ADH-Nachweis angewandten Methoden sind unterschiedlich und nicht ohne Fehlerquellen.

Diese Tatsache führt zu dem Schluß, daß sich vorerst über die Rolle des Adiuretins bei Störungen des Wasserhaushalts anderer Genese als beim Diabetes insipidus nichts Sicheres sagen läßt.

Historischer Überblick der verschiedenen Adiuretinnachweismethoden

Da bisher unzählige Versuche und Methoden für den Nachweis des ADH im Blut oder Urin angewendet und durchgeführt wurden, erscheint es notwendig, in einer kurzen Übersicht den jetzigen Stand der auf diesem Gebiet geleisteten Forschung aufzuweisen. Jedoch wird sich der geschichtliche Rückblick im wesentlichen auf die Beantwortung von vier entscheidenden Fragen beschränken:

1. Auf welcher physiologischen Basis beruhte der Nachweis; in Messung der Chloridausscheidung, der Wasserausscheidung oder der osmotischen Aktivität des Urins?
2. Welches Tier wurde zu den Versuchen gewählt?
3. Wurde das Testmaterial - Blut oder Urin - in Nativform oder erst nach einem bestimmten vorangegangenen Extraktionsverfahren injiziert?
4. Was läßt sich über die Applikationsform, die Empfindlichkeitsgrenze und die Reproduzierbarkeit der jeweiligen Methode aussagen?

Als Beispiel für die Messung der Chloridausscheidung im Urin nach der Injektion verschiedener Adiuretindosen wären die Arbeiten von Ham 1941 (57) und Ralli 1950 (94) zu nennen. Da die angewandten Methoden der beiden Autoren im wesentlichen übereinstimmen, genügt es, hier nur auf die Versuche von Ralli ausführlicher einzugehen. Ralli führte seine Untersuchungen an männlichen Ratten durch. Als Testmaterial benutzte er das sog. Pitressin, das er der Ratte intraperitoneal spritzte. Die Tiere hatten ein Durchschnittsgewicht von 200 g und erhielten 15 Stunden vor Versuchsbeginn weder Nahrung noch Wasser. Anschließend wurde durch die Magensonde eine Hydrierung mit lauwarmem Wasser (37° C) vorgenommen, bis die zugeführte Wassermenge 5 % des Körpergewichtes der Ratte betrug. 30 Minuten nach der Hydrierung wurde die ausgeschiedene Urinmenge jede Viertelstunde gemessen und ihr Chloridgehalt bestimmt. Die Messungen wurden so lange aufgezeichnet, bis 50 % des dem Tier verabreichten Wassers wieder zur Ausscheidung gekommen waren. Wenn diese 50 % der Ausscheidung nicht erreicht werden konnten, setzte man den Versuch auf 240 Minuten an. Die Versuchsergebnisse zeigten eine Abhängigkeit der im Urin ausgeschiedenen Chloridmenge von der zugeführten Pitressindosis und zwar in dem Bereich von 10-50 mE/ml. Bei Pitressinkonzentrationen unter 10 mE/ml war kein chloruretischer Effekt nachzuweisen, so daß für diese Methode die untere Empfindlichkeitsgrenze mit 10 mE/ml Pitressin anzusetzen wäre.

Im folgenden nun seien eine Gruppe von Autoren zusammengefaßt, die bei ihren Versuchen von der Überzeugung ausgehen, daß eine Diuresehemmung nach appliziertem Testmaterial auf das Vorhandensein einer antidiuretischen Substanz - die sie als identisch mit dem hypophysären Adiuretin ansehen - zurückzuführen ist.

Birnie (12) wählte zu seinen Untersuchungen, die er im Jahre 1950 vornahm, männliche Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 200 g. Den Tieren wurde 18 Stunden vor Versuchsbeginn die Nahrung entzogen, jedoch

konnten sie Wasser je nach Bedarf zu sich nehmen. Nach 18 Stunden wurde die Hydrierung angesetzt, indem den Tieren im Abstand von einer Stunde 2 mal eine auf Körpertemperatur erwärmte Wassermenge von 3 ml/100 qcm Körperoberfläche eingegeben wurde. Dies bedeutete für eine 200 g schwere Ratte eine Wasserzufuhr von 9 ml. Eine Stunde nach der zweiten Wassergabe wurde die ausgeschiedene Urinmenge geprüft. Tiere, bei denen die Urinausscheidung über oder unter 50 % des aus einem Kollektiv von 6 Ratten errechneten Mittelwertes lagen, schieden aus. Den versuchstauglichen Tieren wurde dann das Testmaterial intraperitoneal gespritzt, gefolgt von einer dritten Wasserzufuhr. Während der drei folgenden Stunden wurde in Abständen von 30 Minuten das ausgeschiedene Urinvolumen gemessen und in prozentuale Beziehung zu der gesamten zugeführten Wassermenge gesetzt.

Als Testmaterial diente Nativserum, das unter Äthernarkose direkt vom Herzen der Tiere entnommen wurde. Das Blut wurde für etwa 2 Minuten zentrifugiert und das so erhaltene Serum sofort den Versuchstieren eingespritzt.

Birnie verzichtete in seiner Untersuchung auf die Bestimmung der Empfindlichkeitsgrenze durch Anwendung einer mehr oder weniger stark konzentrierten Vasopressinlösung. Er stellte lediglich fest, daß bei ihm das injizierte Serum eine antidiuretische Wirkung hatte. - Die Reproduzierbarkeit der Methode hält Birnie für möglich, doch hat er aus Genauigkeitsgründen von einer mehrfachen Injektion desselben Tieres abgesehen.

Ähnliche Versuche an Ratten führten Ginsburg 1951 (51), Heller und Ginsburg 1953 (52), Dicker 1953 (34), Noble und Taylor 1953 (87), Niels et al. 1957 (85), Hawker 1957 (59), Dettelbach 1958 (31) und Friedberg und Vorherr 1959 (125) durch.

Anselmino und Hoffmann (2, 3) wählten 1931 und 1936 zu ihren Experimenten als Testtiere Kaninchen, während Buchborn 1955 (19) einen Adiuretinnachweis an der Erdkröte vornahm.

Der frühere Versuch (1931) von Anselmino und Hoffmann ging von der Herstellung eines sauren Ultrafiltrates, das vor dem Versuch durch Zusatz von n-Natronlauge sorgfältig neutralisiert wurde, aus. Daran schloß sich eine Überprüfung des Ultrafiltrates auf seine pharmakologischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften an. Die Reaktion des Ultrafiltrates erwies sich bei dieser Behandlung genau so wie die eines reinen Hypophysenhinterlappenhormones. - Nach subcutaner Injektion von 10 ml Blut-Ultrafiltrat wurde eine Diuresehemmung bemerkt. Das Aufdecken einer Empfindlichkeitsgrenze wird von Anselmino und Hoffmann nicht erwähnt.

In ihrem wenige Jahre später (1936) zum Abschluß gebrachten Versuch haben Anselmino und Hoffmann sich bemüht, eine Ultrafiltrationsmethode auszuarbeiten, durch die zugeführtes Hypophysenhinterlappenhormon sowohl aus dem zirkulierenden Blut, als auch nach Zusatz zu Blut *in vitro* wiedergewonnen werden kann. Das Prinzip der angegebenen Methode besteht darin, daß die wirksamen Substanzen mittels Ultrafiltration durch ein weitporiges Eisessigkollodiumfilter in eiweißfreie Lösung überführt werden.

1951 kam Ginsburg bei seinen Untersuchungen an Albinoratten zu den folgenden Ergebnissen: Mit der subcutan gespritzten Vasopressinlösung fand er im Bereich von 0,4 - 2,25 mE/100 g Rattengewicht die Empfindlichkeitsgrenze. In unbekannter Lösung müssen mindestens 10 mE Vasopressin/ml enthalten sein, um bei Anwendung dieser Methode mit Sicherheit den Adiuretinachweis erbringen zu können.

Zwei Jahre später (1953) hat Ginsburg in Zusammenarbeit mit Heller seine Untersuchungen wieder aufgenommen. Diesmal wurden außer Ratten auch noch Kaninchen getestet. Es stellte sich bei Injektionen von Standard-Vasopressin und Flüssigkeiten mit unbekannter Vasopressinmenge heraus, daß die Empfindlichkeit der Ratten gegenüber Vasopressin beträchtlich schwankte. Bei manchen Tieren konnte nach 0,2 mE nur eine geringe oder gar keine Reaktion festgestellt werden, während andere Tiere schon sichtbar auf 0,05 mE ansprachen.

Mit Ausnahme zweier Versuchskaninchen zeigten die übrigen bei 0,125 mE/1 kg Körpergewicht eine Diuresehemmung. In den beiden Sonderfällen konnte schon eine verminderte Urinausscheidung nach 0,0325 mE Vasopressin/1 kg Körpergewicht beobachtet werden.

Über die Reproduzierbarkeit der Methode wurde nichts ausgesagt.

Dicker (1953) injizierte i.v. seinen anästhesierten und hydrierten männlichen Ratten Serum wieder in Nativform. Als untere Empfindlichkeitsgrenze stieß er dabei auf 0,0035 mE/100 g Körpergewicht. Auch er unterließ es, die Reproduzierbarkeit zu erwähnen.

Ebenfalls im Jahre 1953 benutzten Noble und Taylor hydrierte Ratten für ihre Experimente. Sie injizierten subcutan oder intraperitoneal Urinextrakte. Bei ihnen fehlen genaue Angaben sowohl über die Empfindlichkeitsgrenze als auch die Reproduzierbarkeit der Methode.

Im Jahre 1957 arbeitete Niels und Thorn an weiblichen Ratten. Sie

hydrierten die mit Äthanol anästhesierten Tiere mit der Magensonde (5 ml lauwarmes Wasser pro 100 g Körpergewicht) und legten auf operativem Wege einen Blasenkatheter. Die Empfindlichkeitsgrenze lag bei 0,06 - 0,36 mE/ml. Die Injektion des Testmaterials erfolgte subcutan. Über die Reproduzierbarkeit wurde sich nicht geäußert.

Hawker 1957 versetzte seine Versuchstiere durch Zuführung von Äthanol in eine tiefe Narkose. Für die i.v.-Injektion des Testmaterials legte er eine Kanüle in die Jugularvene und für die Urinentnahme einen Katheter in die Blase. Ungefähr eine Stunde nach der Operation erhielt jedes Tier 10 ml Wasser mit der Sonde und es wurde dann ständig genügend Wasser zugeführt, um eine konstante Diurese zu erhalten. Das Urinvolumen wurde in Abständen von 10 Minuten abgelesen, und wenn die Exkretion relativ unverändert blieb während drei folgenden 10-Minuten-Perioden, wurde in die Jugularvene eine Injektion von Standard-Vasopressin oder unbekannter Testflüssigkeit (Menge: 1 ml) gespritzt. Eine 25 %ige Verminderung des Urinvolumens in den folgenden drei 10-Minuten-Perioden wurde als Zeichen eines positiven antidiuretischen Ergebnisses angesehen.

Die in allen Versuchen benutzte Standardlösung war Pitressin, hergestellt in einer Konzentration von 10 I.E./0,5 ml. Das Blut wurde entweder als Nativserum oder als Plasma nach Heparinzusatz (2 Tropfen/20 ml Blut einer Lösung von 5000 I.E./ml) verabreicht. Über die Empfindlichkeitsgrenze und die Reproduzierbarkeit der Methode ist nichts genaues angegeben.

Dettelbach beschreibt 1958 eine i.v.-Methode, die durch eine große Genauigkeit ausgezeichnet ist. Die zu untersuchende Ratte wird unter einer andauernden Wasserbelastung und Äthanol-Anästhesie gehalten. Es wurden an 65 Tieren 165 Injektionen durchgeführt, wobei sich herausstellte, daß ein sinnvolles Ergebnis nur bei Konzentrationen, die zwischen 0,002 - 20,064 mE Vasopressin/Injektion liegen, erreicht werden kann. Dettelbach konnte bei seinen Untersuchungen eine Empfindlichkeitsgrenze, die für den Durchschnitt der Tiere bei 0,004 mE/Ratte und für besonders schnell reagierende Tiere bei 0,002 mE/Ratte liegt, feststellen.

Unabhängig von Dettelbach kamen Friedberg und Vorherr 1959 bei ihren Untersuchungen an weiblichen Albinoratten zu denselben Ergebnissen. Sie fanden eine Empfindlichkeitsgrenze, die bei 0,005 mE/Ratte liegt. Außerdem zeichnete sich ihre Methode durch die gute Reproduzierbarkeit aus. Die Genauigkeit der Resultate ist auf exakte Registrierung der Diurese über einen elektrischen Tropfenzähler zurückzuführen, wodurch die geringste

Diureseschwankung schon zu erfassen ist. Um eine Belastung der Tiere durch einen operativen Eingriff zu vermeiden, wurde der Blasenkatheter durch die Urethra eingeführt.

Buchborn ließ 1955 von den bis dahin angewendeten Versuchstieren wie Ratte, Hund, Katze und Maus ab und richtete seine Aufmerksamkeit auf die Erdkröten, die ihm als Testobjekt geeignet erschienen (genaue Beschreibung der Methode s. u.).

Er konnte eine Empfindlichkeitsgrenze von 0,01 - 1,0 mE/ml Vasopressin ermitteln. Buchborn glaubte an eine Reproduzierbarkeit seiner Methode, wenn ein "stabiler Adiuretinstandard von konstanter Wirksamkeit" benutzt würde.

Eine weitere Möglichkeit, ein appliziertes Testmaterial auf seinen ADH-Gehalt zu prüfen, wird in der Auswertung der osmotischen Aktivität des Urins zu suchen sein. Zur Klärung der sich dabei ergebenden Probleme hat Crawford wesentlich mit seinen Untersuchungen beigetragen. Als Testtiere benutzte er männliche Ratten, die vor Versuchsbeginn mit 350 ml lauwarmem Wasser (37° C) pro 1 qm Körperoberfläche hydriert worden waren. Das Testmaterial wurde dann intraperitoneal gespritzt und der Empfindlichkeitsbereich zwischen 0,1 - 0,4 mE festgestellt. Als Wirkungsindex galt die Veränderung des wässrigen Urins, in Beziehung zu der gesamten osmotisch wirksamen Lösung gesetzt.

EXPERIMENTELLER TEIL

Methodik

In der Ausführung der Methode hielt ich mich streng an den von Buchborn beschriebenen Originalversuch. Als Testtiere wurden einheimische männliche Erdkröten (*Bufo vulgaris*) im Gewicht von 25 bis 40 g benutzt. Die Tiere wurden regelmäßig mit Mehlwürmern (Telenariolarven) gefüttert und in einem gut durchlüfteten, gleichmäßig temperierten Kellerraum gehalten. Dort lebten sie in lockerem Erdboden und genügend angefeuchtetem Moos, mit stets freiem Zugang zu ihrem Wasserbassin. Die Erde wurde wöchentlich und das Wasser täglich erneuert, um in jeder Hinsicht den Tieren ein Milieu zu schaffen, das den optimalen Bedingungen unter normalen Lebensumständen entspricht. 24 Stunden vor Versuchsbeginn bekamen die Tiere das Futter entzogen, damit so für die Urinexpression und anschließende Wägung etwai-

ge Ungenauigkeiten durch das Vorhandensein von Kot im Kloakeninhalt ausgeschaltet wurden. Ferner wurden die Tiere 6 - 8 Stunden vor dem Test in chlorfreies Leitungswasser zwischen 17 und 23 Grad C gesetzt zur Einstellung eines Wassergleichgewichts. Dabei konnten gleichzeitig die häutenden Kröten erfaßt und von dem Versuch ausgeschlossen werden, denn bekanntlich erfolgt vor und nach der Häutung eine verstärkte Wasseraufnahme.

Während des eigentlichen Versuchs befand sich jedes Tier ungestört in einem eigenen Behälter, der in der Größe sogewählt wurde, daß die Kröte zwar bequem - allseitig von Wasser umgeben - darin sitzen konnte, ihr aber kein Platz zum Herumspringen gegeben war. Auch die Höhe des Wasserspiegels wurde so bestimmt, daß nur der Kopf des Tieres zum Atmen über die Wasseroberfläche hervorragte. Zur Verhinderung von Schwankungen der Melanophorenhormonaktivität sollen dabei die Gefäße möglichst auf gleichem Farbuntergrund stehen und vor grellem Lichteinfall geschützt werden.

Der Versuch selbst begann mit der ersten Wägung. Zu diesem Zwecke wurde das Tier vorsichtig aus seinem Behälter genommen, der nasse Körper mit einem Filterpapier behutsam abgetrocknet, auf die Wagschale gelegt, unter einer der Größe des Körpers angepaßten Plexiglasglocke zum Stillsitzen gezwungen, und auf 50 mg genau gewogen. Danach wurde durch leichten Druck auf beide Flanken mit folgender Expression der Harnblase eine Urinentleerung ausgelöst. Um in jedem Falle die Harnblase völlig zu leeren, wurden mit einer kleinen Pipette in Form eines Katheters die letzten Harntropfen entnommen. Dann wurde das Tier abermals getrocknet und zum zweiten Male gewogen. Die gesamte abgegebene Urinmenge ergibt sich in Gramm aus der Differenz der beiden Körpergewichte. Zur Ermittlung der stündlichen Diurese wurde der beschriebene Vorgang noch viermal im Abstand von je einer Stunde wiederholt, und der ganze Versuchsabschnitt als Vorperiode bezeichnet. Dabei muß noch erwähnt werden, daß eine Stunde vor der ersten Wägung allen Tieren hintereinander die Kloake entleert wurde, damit jede Kröte unter den gleichen Bedingungen die Vorperiode beginnen konnte.

Nach Abschluß der vierstündigen Vorperiode wurde die Testflüssigkeit gespritzt und zwar 0,5 ccm pro 10 g Körpergewicht. Die Injektion erfolgte durch die Oberschenkelmuskulatur, zur Verhütung eines Flüssigkeitsaustritts aus dem Stichkanal subkutan entlang dem Rückgrat in den dorsalen Lymphsack.

Das injizierte Material läßt man eine Stunde auf den Wasserhaushalt des Tieres wirken, um dann noch 3 mal stündlich die Gewichtsveränderungen und damit die Diurese in der angegebenen Weise zu bestimmen.

Auswertung der Versuchsergebnisse

Zur Minderung der Fehlerquellen dieses biologischen Tests wurde unter den benutzten Versuchstieren eine gewisse Auswahl getroffen. Dazu wurde der Mittelwert der 4 Diuresewerte der Vorperiode bestimmt, um dann nach den allgemeinen statistischen Regeln von allen Mittelwerten aller Vorperioden wiederum einen Mittelwert und dessen Standardabweichung zu berechnen. Diejenigen Tiere, deren Vorperiodewerte außerhalb der Standardabweichung lagen, d.h. den 3 σ -Wert überschritten, wurden ausgeschieden, da bei ihnen angenommen werden mußte, daß sie sich nicht im Wassergleichgewicht befanden.

Bei den versuchstauglichen Tieren wurde der Diuresewert der 1., 2. und 3. Stunde nach Injektion der Testflüssigkeit mit dem Diurese-Mittelwert der Vorperiode verglichen und in ein prozentuales Verhältnis gebracht. Dies geschah, indem die Differenz zwischen dem Diurese-Mittelwert der Vorperiode und dem Diuresewert 1 Stunde nach Injektion in % der Diuresehemmung bzw. der Diuresesteigerung gegenüber dem Mittelwert der Vorperiode angegeben wurde. Der Diurese-Mittelwert der Vorperiode selbst wurde dabei mit 100 % angesetzt. In gleicher Weise wurden die Prozentsätze für die Diuresewerte der 2. und 3. Stunde nach Injektion berechnet.

ERGEBNISSE

Untersucht wurden:

- I. Chemische Test- und Kontrollösungen
 1. an 107 Kröten eine Testlösung mit Vasopressin
 2. an 131 Kröten eine Kontrollösung mit Phys. NaCl
 3. an 50 Kröten eine Kontrollösung mit Aqua dest.
- II. Klinische Fälle mit unverdünntem Serum
 1. an 37 Kröten von 6 Normalpatientinnen
 2. an 69 Kröten von 11 Pat. nach 24 h Durst
 3. an 68 Kröten von 11 Pat. 2 1/2 h nach dem Trinken von 1500 ccm Tee
 4. an 61 Kröten von 10 Schwangeren (M. X)
 5. an 50 Kröten von 8 Toxikose-Pat.

III. Klinische Fälle mit nach Buchborn 1 : 1 verdünntem Plasma

1. an 40 Kröten von 6 Normalpatientinnen
2. an 40 Kröten von 8 Pat. nach 24 h Durst
3. an 34 Kröten von 7 Schwangeren (M. X)
4. an 44 Kröten von 6 Toxikose-Pat. (frisch)
5. an 77 Kröten von 15 Toxikose-Pat. (Kühltruhe gelagert)

ad I) Chemische Test- und Kontrollösungen

Die Empfindlichkeit der Kröten gegenüber verschieden stark konzentrierten Vasopressinlösungen wurde geprüft, indem das als Tonephin im Handel befindliche ADH-Präparat (hergestellt von den Farbwerken Höchst, Frankfurt a/M) mit Aqua dest. verdünnt und in folgenden Konzentrationen der Kröte injiziert wurde:

$10\mu\text{E}$ - $50\mu\text{E}$ - $100\mu\text{E}$ - $250\mu\text{E}$ - $1250\mu\text{E}$ - $2500\mu\text{E}$.

Das Injektionsvolumen betrug immer 0,5 ml pro 10 g Körpergewicht. Um eine etwaige Inaktivierung des Adiuretins durch zu langes Stehen auf alle Fälle auszuschalten, wurden die einzelnen Verdünnungen erst unmittelbar vor der Injektion innerhalb weniger Minuten hergestellt. Es wurde jeweils dieselbe Konzentration einem Kollektiv von 15 bis 20 Tieren verabreicht, um einen genügend gesicherten Mittelwert zu erhalten. Die Wirkung der verschiedenen Adiuretin-Dosen auf die Diurese der Kröte zeigen die Abbildungen 1 bis 3. Nachdem in der oben beschriebenen Weise der Diuresewert jedes der 15 - 20 Tiere ein und zwei Stunden nach Injektion in eine prozentuale Beziehung zur Vorperiode gesetzt war, konnte von den so berechneten 15 - 20 Prozentsätzen der Mittelwert und die Standardabweichung des Mittelwertes ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) bestimmt und im Diagramm zur Darstellung gebracht werden. Außer den Vasopressinkonzentrationen wurde als Vergleichslösung sowohl physiol NaCl als auch reines Aqua dest. gespritzt, ebenfalls 0,5 ml pro 10 g Körpergewicht.

Die Aqua dest.-Injektion bewirkte eine Harnflut

in der 1. Stunde von $+ 92 \pm 4,4 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) und

in der 2. Stunde von $+ 41 \pm 4 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$).

Die kleinste Vasopressindosis von

$10\mu\text{E}$ zeigte mit ihrem Ergebnis von

$+ 27 \pm 9,7 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) in der 1. Std. und von

$+ 24,5 \pm 11,2 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) in der 2. Std. gegenüber der Vorperiode noch keine Hemmung, wohl aber bereits gegenüber dem Aqua dest.-Wert.

Dagegen hatte die nächst folgende Injektion von

$50\mu\text{E}$ auch schon in der 1. Std. mit

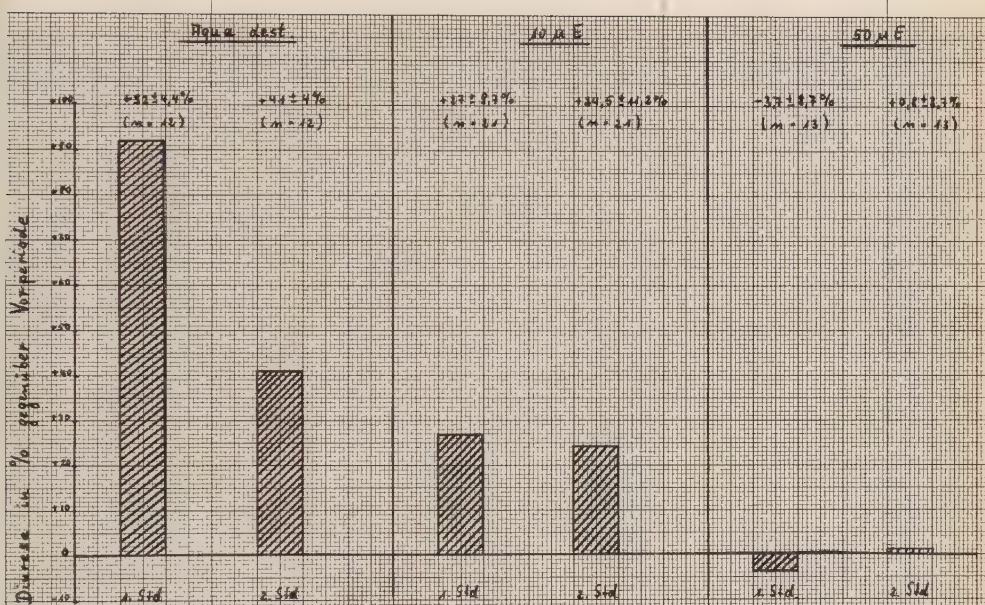


Abb 1: Verhalten der Diurese nach Injektion von 0,5ml/10g Körpergew.

Aqua dest.
10 µg Vasopressin (Touphlin)
50 µg Vasopressin (Touphlin)

Es werden die Mittelwerte u. ihre Standardabweichung angegeben: $\bar{x} \pm s\bar{x}$
Die Mittelwerte bedeuten Diureseshemmung bzw. Diuresissteigerung in %
n = Anzahl der Versuchstiere

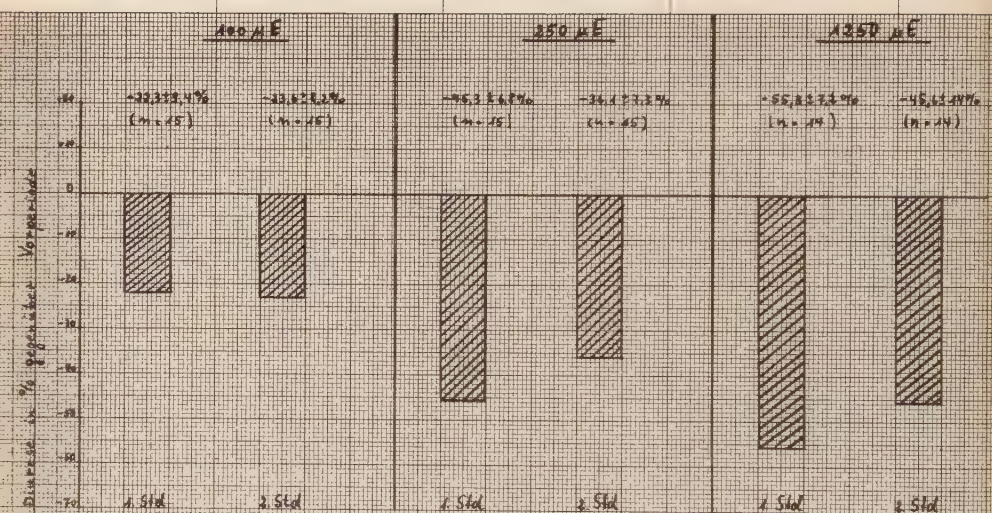
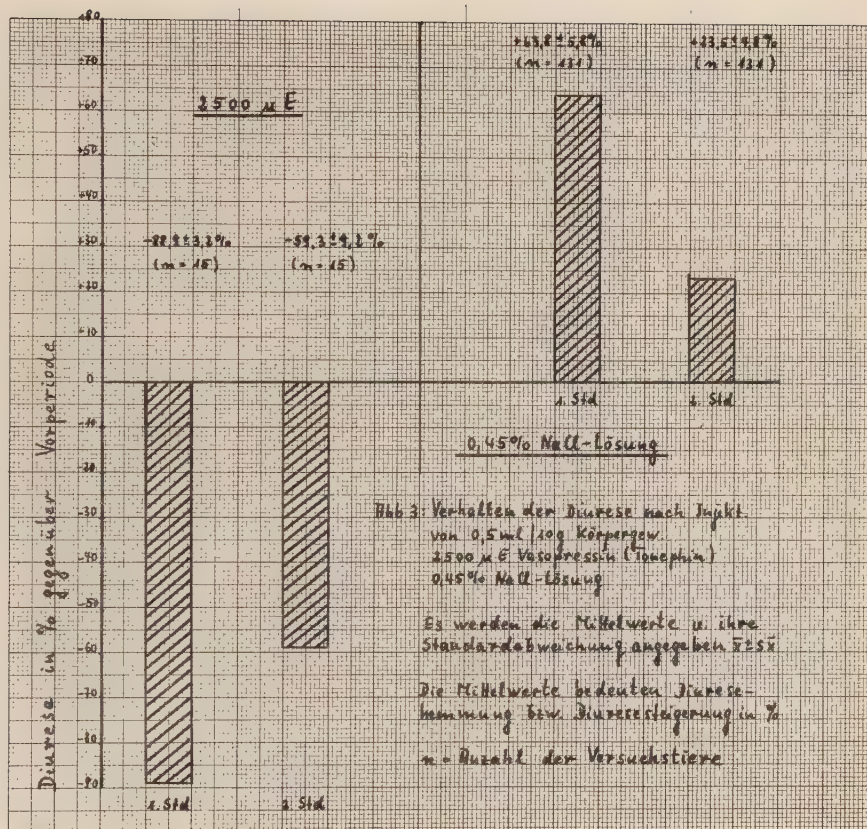
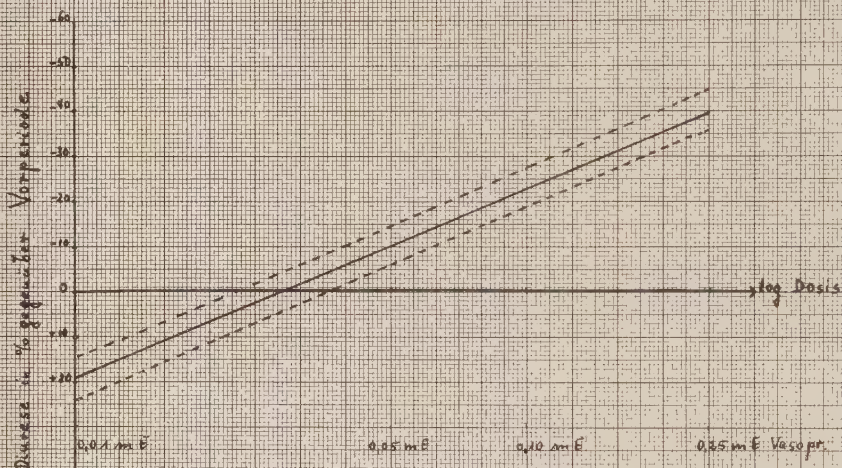


Abb 2: Verhalten der Diurese nach Injekt. von 0,5 ml/10g Körpergew. 100 µE Vasopressin (Tonaphin)
 250 µE Vasopressin (Tonaphin)
 1250 µE Vasopressin (Tonaphin)

Es werden die Mittelwerte u. ihre Standardabweichung angegeben $\bar{x} \pm s$
 Die Mittelwerte bedeuten Diureseshemmung bzw. Diuresestärkung in %
 n = Anzahl der Versuchstiere





8664. Regressionsgerade: Diuresehemmung nach Injekt. von
 0.5 ml Vasopressin $\frac{1}{100}$ Körpergew.
 Als Irritationslösungen wurden folgende
 Konzentrationen inverteilt:
 0.01 mE Vasopressin (Tonaphin)
 0.05 mE Vasopressin (Tonaphin)
 0.10 mE Vasopressin (Tonaphin)
 0.25 mE Vasopressin (Tonaphin)

- $3,7 \pm 8,7\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) eine Hemmung gegenüber der Vorperiode, allerdings in der 2. Std. liegt sie mit dem geringen %-Satz von $+0,8 \pm 8,7\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) noch im positiven Bereich.

Eine Hemmung - verglichen mit der Vorperiode - ergab sowohl in der 1. Std. als auch in der 2. Std. die Injektion von

100 μ E Vasopressin mit $-22,3 \pm 9,4\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) und
 $-23,6 \pm 8,2\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$).

Die weiteren, stärker konzentrierten Lösungen zeigen alle einen noch auffälligeren Hemmeffekt, nämlich:

250 μ E $-45,3 \pm 6,8\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) in der 1. Stunde und
 $-36,1 \pm 7,3\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) in der 2. Stunde.

1250 μ E $-55,3 \pm 7,2\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) in der 1. Stunde und
 $-45,6 \pm 14\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) in der 2. Stunde.

Die höchste Vasopressindosis war

2500 μ E und hat mit
 $-88,9 \pm 3,2\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) in der 1. Stunde und
 $-59,3 \pm 9,2\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) in der 2. Stunde die stärkste Diuresehemmung zur Folge.

Anhand der hier aufgeführten Wirkungsergebnisse konnte eine dosisabhängige Wirkung der Vasopressin-Testlösung festgestellt werden. Nimmt man als Wirkungsindex die nach Vasopressininjektionen einsetzende Diuresehemmung (prozentual gegenüber der Diuresegröße der Vorperiode gemessen), so besteht eine gesetzmäßige Abhängigkeit von der eingespritzten ADH-Dosis.

Abb. 4 zeigt die Dosiswirkungskurve von Vasopressin in Aqua dest. gelöst als Regressionsgerade.

Die Verabreichung von physiologischer Kochsalzlösung bewirkte mit $+63,8 \pm 5,8\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) eine nicht ganz so hohe Harnflut wie die Aqua dest.-Lösung. Dieser Versuch wurde hauptsächlich zum Vergleich für die anschließenden Serum-Tests durchgeführt.

ad II) Klinische Fälle mit unverdünntem Serum

Bei der Untersuchung der klinischen Fälle erfolgte eine Aufteilung in zwei Gruppen, und zwar wurde zuerst an insgesamt 285 Tieren das unverdünnte Serum von 48 Patientinnen getestet und in einer zweiten Versuchsreihe an 235 Tieren das verdünnte Plasma von 42 Patientinnen. Die Verdünnungs-

lösungen wurden mit Aqua dest. im Verhältnis 1 : 1 so hergestellt, daß das Testmaterial einer 0,45 %igen Na Cl-Lösung entsprach. - Das Blut wurde den Versuchspersonen aus der Cubitalvene entnommen, 5 Minuten im Eisschrank gekühlt, anschließend für etwa 7 Minuten zentrifugiert, um dann sofort in den dorsalen Lymphsack der Kröten gespritzt zu werden. Ebenso wie bei den Vasopressinlösungen erhielt jedes Tier 0,5 ml pro 10 g Körpergewicht.

Abb. 5 zeigt an 6 verschiedenen Fällen die Wirkung des Nativserums von gesunden Frauen auf die Diurese der Kröte.

In der Abb. 5 a ist der Durchschnittswert der 6 Serumtests zur Darstellung gebracht und in Abb. 5 b sind zur besonderen Veranschaulichung die 6 Fälle noch einmal einzeln aufgeführt. Das Serum von einer Frau wurde jeweils einem Kollektiv von 6 - 7 Tieren verabreicht.

Der Mittelwert der 6 Normalseren liegt 1 Stunde nach Injektion bei

- $3,9 \pm 5,5 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), in der 2. Stunde bei
- + $14,7 \pm 6,35 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), und in der 3. Stunde bei
- + $21,8 \pm 7,8 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$).

Tabellarische Übersicht zu den Kurven der Abb. 5 b:

	$\bar{x} \pm S\bar{x}$		
	1. Stunde	2. Stunde	3. Stunde
1. Fall	+ $11 \pm 31,02 \%$ (n = 4)	- $28,7 \pm 13,66 \%$ (n = 4)	+ $79,7 \pm 37,71 \%$ (n = 4)
2. Fall	- $6,8 \pm 18,1 \%$ (n = 6)	- $1,8 \pm 12,8 \%$ (n = 6)	+ $9,6 \pm 10,9 \%$ (n = 5)
3. Fall	+ $7,4 \pm 14,0 \%$ (n = 7)	+ $37,4 \pm 10,4 \%$ (n = 7)	+ $33,3 \pm 14,5 \%$ (n = 7)
4. Fall	- $10 \pm 8,8 \%$ (n = 7)	+ $22,1 \pm 18,4 \%$ (n = 7)	+ $5,9 \pm 10,1 \%$ (n = 7)
5. Fall	- $5,3 \pm 6,8 \%$ (n = 7)	+ $11,6 \pm 18,1 \%$ (n = 7)	- $3 \pm 14 \%$ (n = 7)
6. Fall	- $15,3 \pm 5,6 \%$ (n = 6)	+ $28,7 \pm 14,3 \%$ (n = 6)	+ $26,3 \pm 8,4 \%$ (n = 6)

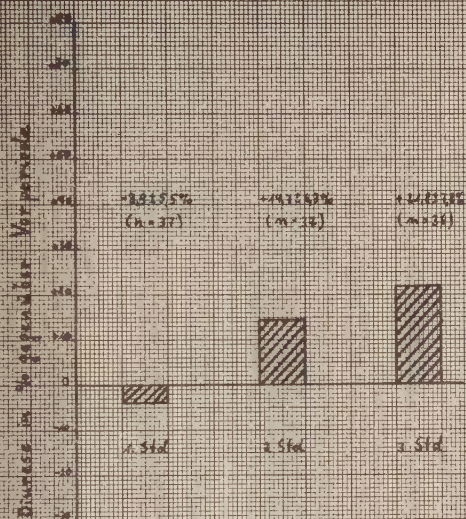


Abb 5a: Durchschnittswerte der Normal-Serien 1-6

Es werden die Mittelwerte u ihre Standardabweichung angegeben. $\bar{x} \pm s$

Die Mittelwerte bedeuten Durchschöpfung bzw. Durchsteigerung in %

n = Anzahl der Versuchstiere

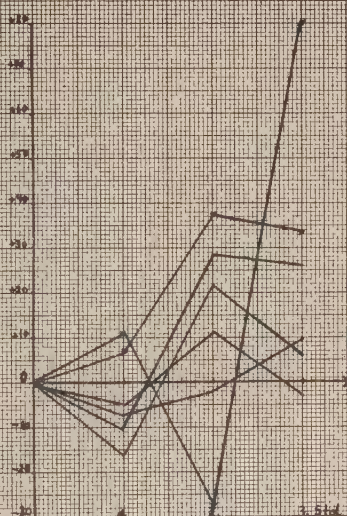


Abb 5b: Einzelkurven der Normal-Serien 1-6

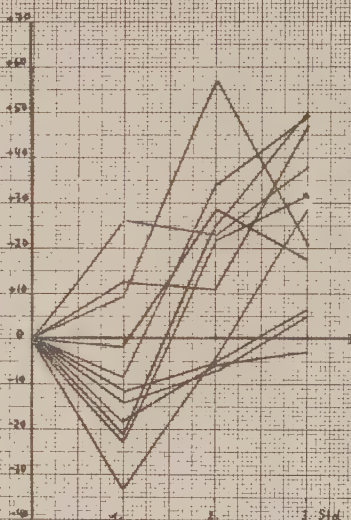
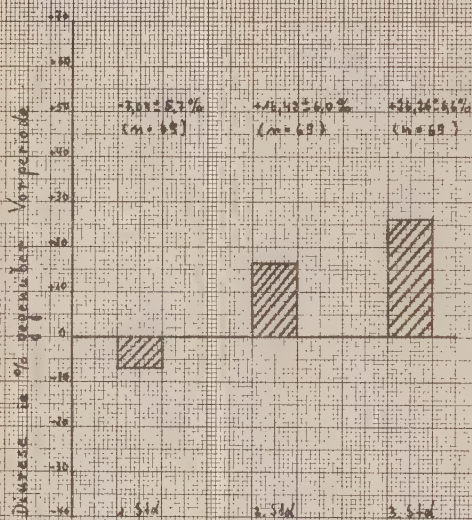


Abb. 6a: Durchschnittswerte der Serien 1-11 während eines Vaidar'schen-Harnflutstadiums

Es wurden die Mittelwerte u. ihre Standardabweichung angegeben: $\bar{x} \pm s$

Die Mittelwerte bedeuten Diuresenormung bzw. Diuresesteigerung in % im Vergleich der Vorperiode

Abb. 6b: Einzelkurven der Harnflut-Serien 1-11

Es sind für jeden getesteten Fall der Mittelwert und dessen Standardabweichung ($\bar{x} + S\bar{x}$) - errechnet aus dem jeweils mit demselben Serum gespritzten Tierkollektiv - angegeben. Die Mittelwerte bedeuten Diuresehemmung bzw. Diuresesteigerung in %. n = Zahl der Versuchstiere.

Ferner wurde von je 11 Personen an insgesamt 137 Tieren das Serum nach durchgeführtem Volhard'schen Verdünnungs- und Konzentrationsversuch auf seine antidiuretische Substanz untersucht. Die Frauen tranken morgens um 7 Uhr nüchtern 1500 ml Tee. 2 1/2 Stunden danach, im Stadium der Harnflut, - zur Zeit des niedrigsten spezifischen Gewichts des Urins, - wurde in der oben angegebenen Form das Blut abgenommen und den Tieren injiziert. Anschließend mußte die Frau unter Kontrolle 24 Stunden dursten, damit so während der höchstmöglichen Urinkonzentration das Blut für den Konzentrationstest gewonnen werden konnte, um in gleicher Weise injiziert zu werden. Es wurde stets das spezifische Gewicht des Urins gemäß der Vorschrift nach Volhard halbstündlich gemessen, damit genau die Stunde der geringsten und der größten Harnkonzentration für die entsprechende Blutentnahme festgelegt werden konnte.

Abb. 6 a bringt die Mittelwerte der 11 untersuchten Volhard'schen Harnflut-Seren. Die Austestung erfolgte an 69 Tieren und ergab

- für die 1. Std. - $7,03 \pm 5,7\%$ ($\bar{x} + S\bar{x}$),
- für die 2. Std. + $16,42 \pm 6,0\%$ ($\bar{x} + S\bar{x}$), und
- für die 3. Std. + $26,26 \pm 6,6\%$ ($\bar{x} + S\bar{x}$).

Es liegt also in der 1. Stunde wieder eine bemerkenswerte Hemmung der Diurese vor, die zu vergleichen wäre mit der Wirkung einer Vasopressinlösung von 50 - 100 μ E.

Abb. 7 a zeigt die Ergebnisse der am Konzentrationstag gespritzten Blutseren. Der Mittelwert der 11 Seren ist

- für die 1. Std. - $18,48 \pm 5,5\%$ ($\bar{x} + S\bar{x}$),
- für die 2. Std. + $8,35 \pm 6,2\%$ ($\bar{x} + S\bar{x}$),
- für die 3. Std. + $18,83 \pm 5,5\%$ ($\bar{x} + S\bar{x}$).

Es wurden dazu 68 Tiere getestet. Die Hemmung in der 1. Stunde entspräche fast derjenigen von 100 μ E Vasopressin. Die folgenden Tabellen dienen der Erklärung der 11 Einzelkurven von Abb. 6 b und 7 b. Es wurde zusätzlich zu den Diureseergebnissen noch das spezifische Gewicht des Urins zur Zeit der Blutentnahme hinzugefügt.

n bedeutet wieder die Zahl der Versuchstiere und das in % ausgedrückte Ergebnis den Mittelwert und seine Standardabweichung (berechnet von der jeweiligen Gruppe von 6 - 7 Tieren).

Tabellarische Übersicht zu den Kurven der Abb. 6 b:

Versuchs- person:	$\bar{x} \pm S\bar{x}$			Spez. Gew. Ur.
	1. Std. nach Inj.	2. Std. nach Inj.	3. Std. nach Inj.	
1.	+ 9, 8 $\pm$ 22, 4 ‰ (n = 7)	+ 56, 8 $\pm$ 19, 0 ‰ (n = 7)	+ 20, 4 $\pm$ 10, 2 ‰ (n = 7)	1004
2.	- 0, 83 $\pm$ 10, 4 ‰ (n = 6)	+ 28, 5 $\pm$ 21, 2 ‰ (n = 6)	+ 17, 8 $\pm$ 13, 3 ‰ (n = 6)	1003
3.	+ 26 $\pm$ 22, 8 ‰ (n = 7)	+ 23, 1 $\pm$ 19, 6 ‰ (n = 7)	+ 37, 9 $\pm$ 21, 7 ‰ (n = 7)	1001
4.	+ 12, 2 $\pm$ 33, 9 ‰ (n = 6)	+ 10, 8 $\pm$ 18, 6 ‰ (n = 6)	+ 47 $\pm$ 25, 5 ‰ (n = 6)	1001
5.	- 21, 2 $\pm$ 18 ‰ (n = 6)	+ 25, 4 $\pm$ 26, 8 ‰ (n = 6)	+ 49, 6 $\pm$ 48 ‰ (n = 6)	1002
6.	- 22, 5 $\pm$ 12, 8 ‰ (n = 6)	+ 23, 3 $\pm$ 25, 1 ‰ (n = 6)	+ 31, 2 $\pm$ 19 ‰ (n = 6)	1001
7.	- 33, 8 $\pm$ 8, 2 ‰ (n = 7)	- 4, 8 $\pm$ 11, 8 ‰ (n = 7)	+ 28 $\pm$ 9, 5 ‰ (n = 7)	1001
8.	- 8, 2 $\pm$ 12, 6 ‰ (n = 6)	+ 34, 7 $\pm$ 22, 6 ‰ (n = 6)	+ 49 $\pm$ 26, 6 ‰ (n = 6)	1000
9.	- 18, 7 $\pm$ 19, 7 ‰ (n = 6)	- 5, 8 $\pm$ 13, 3 ‰ (n = 6)	- 3, 2 $\pm$ 16, 2 ‰ (n = 6)	1001
10.	- 11, 4 $\pm$ 8, 8 ‰ (n = 7)	- 4, 8 $\pm$ 15, 1 ‰ (n = 7)	+ 6, 6 $\pm$ 14, 6 ‰ (n = 7)	1000
11.	- 14, 2 $\pm$ 13, 6 ‰ (n = 6)	- 6 $\pm$ 18, 8 ‰ (n = 6)	+ 5, 7 $\pm$ 15, 7 ‰ (n = 6)	1001

Tabellarische Übersicht zu den Kurven der Abb. 7b:

Versuchs- person:	$\bar{x} \pm \underline{S\bar{x}}$			Spez. Gew. Ur.
	1. Std. nach Inj.	2. Std. nach Inj.	3. Std. nach Inj.	
1.	+ 6, 7 $\pm$ 19, 9 % (n = 6)	+ 56, 7 $\pm$ 12, 2 % (n = 6)	+ 50, 7 $\pm$ 12, 4 % (n = 6)	1026
2.	+ 43, 8 $\pm$ 32, 2 % (n = 6)	+ 32, 7 $\pm$ 31, 7 % (n = 6)	+ 13 $\pm$ 25, 3 % (n = 6)	1025
3.	- 20, 8 $\pm$ 12, 2 % (n = 6)	- 23, 5 $\pm$ 13, 2 % (n = 6)	- 5 $\pm$ 19, 6 % (n = 6)	1030
4.	- 63, 2 $\pm$ 6, 9 % (n = 6)	- 26, 8 $\pm$ 13, 6 % (n = 6)	- 32, 3 $\pm$ 11, 9 % (n = 6)	1028
5.	- 11, 6 $\pm$ 26, 3 % (n = 5)	+ 13, 2 $\pm$ 24, 3 % (n = 5)	+ 19, 6 $\pm$ 15, 5 % (n = 5)	1029
6.	- 39, 7 $\pm$ 11, 3 % (n = 6)	+ 14, 2 $\pm$ 31 % (n = 6)	+ 41, 8 $\pm$ 26, 2 % (n = 6)	1028
7.	- 34, 3 $\pm$ 12, 8 % (n = 7)	+ 9, 4 $\pm$ 18, 5 % (n = 7)	+ 35, 6 $\pm$ 18, 6 % (n = 7)	1027
8.	- 34, 8 $\pm$ 9, 0 % (n = 7)	- 0, 7 $\pm$ 11, 6 % (n = 7)	+ 32, 8 $\pm$ 11, 6 % (n = 7)	1028
9.	- 31, 6 $\pm$ 8, 3 % (n = 5)	+ 0, 8 $\pm$ 7, 5 % (n = 5)	-----	1029
10.	- 7, 3 $\pm$ 12, 9 % (n = 7)	+ 32, 3 $\pm$ 16, 6 % (n = 7)	-----	1034
11.	- 11, 3 $\pm$ 8, 3 % (n = 7)	- 15, 4 $\pm$ 10, 5 % (n = 7)	+ 12, 6 $\pm$ 11, 8 % (n = 7)	1026

Die genaue Aufzeichnung der einzelnen Ergebnisse ist sehr wichtig für die Beobachtung des Streuungsbereiches. Es muß hier festgestellt werden, daß sowohl die Abb. 6 b als auch die Abb. 7 b eine große Streuung zeigen. In Abb. 6 b streuen die Werte der

1. Stunde von: - 33,8 % bis + 26 %,
2. Stunde von: - 6 % bis + 56,8 %,
3. Stunde von: - 3,2 % bis + 49 %.

In Abb. 7 b verteilt sich der Streuungsbereich in der

1. Stunde von: - 63,2 % bis + 43,8 %,
2. Stunde von: - 26,8 % bis + 56,7 %,
3. Stunde von: - 32,3 % bis + 50,7 %.

Eine weitere Versuchsgruppe umfaßt die Untersuchung des Blutes von 10 Schwangeren. Sie befanden sich im X. Graviditätsmonat. Das Blut wurde ihnen ebenfalls aus der Cubitalvene entnommen und in der üblichen Weise den Tierkollektiven injiziert. Die Ergebnisse zeigt die Abb. 8 a.

Es ergab sich als Durchschnittswert der 10 Untersuchungen für die 1. Stunde nach der Injektion:

- $27,2 \pm 5,1 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), für die 2. Stunde:
- $1,2 \pm 7,5 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), für die 3. Stunde:
- + $27,1 \pm 8,0 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$).

Hier wäre der Streuungsbereich wieder von besonderem Interesse, er reicht in der

1. Stunde von: - 56,7 bis + 8,3 %,
2. Stunde von: - 23,2 bis + 55,7 %,
3. Stunde von: - 6,8 bis + 47,1 %.

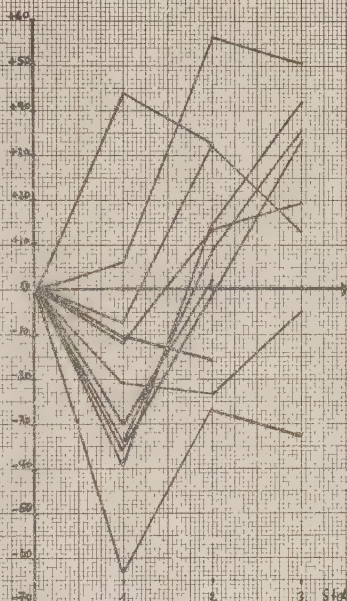
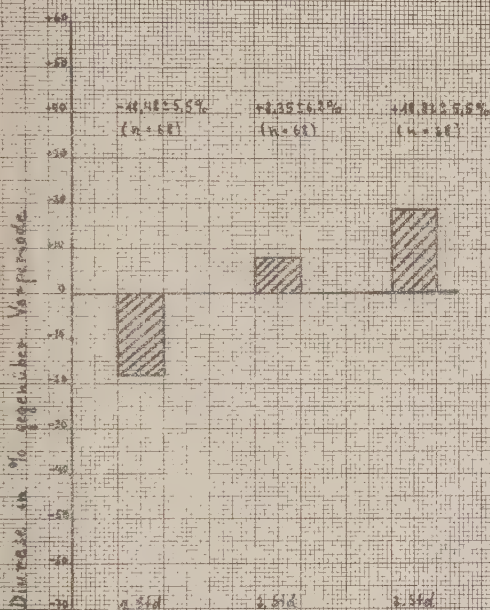


Abb. 7a: Durchschnittswerte der Serien 1-11 nach 24. Dinst
(Volhard'scher Konzentrationsversuch)

Es werden die Mittelwerte u. ihre
Standardabweichung angegeben: $\bar{x} \pm s$
Die Mittelwerte bedeuten: Durchmesser
bzw. Durchmessersteigerung in %
m. n. Anzahl der Versuchsstämme

Abb. 7b: Einzelkurven der
Serien 1-11 nach
24. Dinst

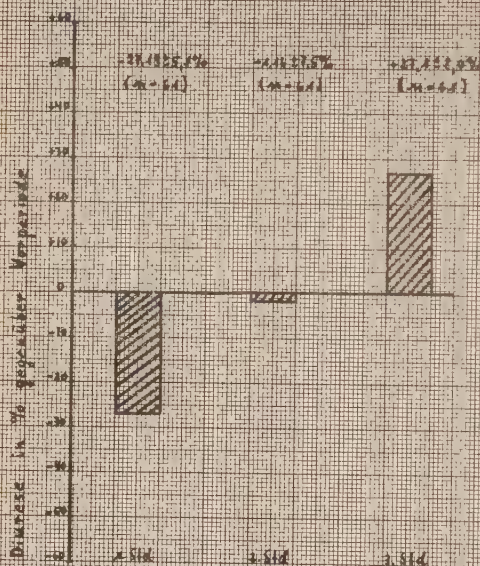


Abb. 1a: Durchschnittswerte der
Schwangeren - Serie A-10

Es werden die Mittelwerte u. ihre
 Standardabweichungen angegeben. RZS:
 Die Mittelwerte bedeuten Durchschnittswert
 bzw. Durchschnittswert in %
 u. Anzahl der Versuche.

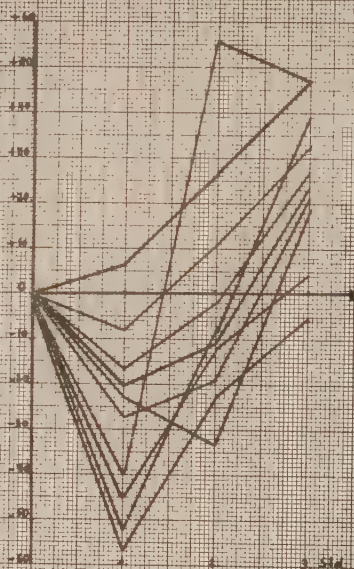


Abb. 1b: Einzelkurven der
Schwangeren - Serie A-10

Tabellarische Übersicht zu den Kurven der Abb. 8 b:

Versuchs- person:	$\bar{x} + S\bar{x}$		
	1. Std. nach Inj.	2. Std. nach Inj.	3. Std. nach Inj.
1.	- 27, 1 + 20, 4 % (n = 7)	- 19, 1 + 20, 8 % (n = 7)	+ 20, 6 + 31, 6 % (n = 7)
2.	- 8, 3 + 18, 8 % (n = 6)	+ 11, 3 + 17, 2 % (n = 6)	+ 32, 7 + 12, 8 % (n = 6)
3.	- 16, 8 + 6, 5 % (n = 6)	- 2, 0 + 17, 0 % (n = 6)	+ 27, 5 + 19, 9 % (n = 6)
4.	- 40, 1 + 26, 9 % (n = 7)	+ 55, 7 + 45, 9 % (n = 7)	+ 47, 1 + 33, 7 % (n = 7)
5.	- 23, 8 + 11, 2 % (n = 6)	- 33, 5 + 9, 2 % (n = 6)	+ 18, 2 + 22, 2 % (n = 6)
6.	- 52, 3 + 6, 9 % (n = 6)	- 8, 7 + 14, 0 % (n = 6)	+ 38, 7 + 16, 0 % (n = 6)
7.	+ 6, 3 + 21, 0 % (n = 6)	+ 25, 8 + 20, 7 % (n = 6)	+ 46, 8 + 23, 8 % (n = 6)
8.	- 56, 7 + 11, 8 % (n = 6)	- 23, 2 + 12, 1 % (n = 6)	- 6, 8 + 15, 6 % (n = 6)
9.	- 45, 7 + 10, 7 % (n = 6)	- 13, 7 + 21, 0 % (n = 6)	+ 3, 8 + 19, 0 % (n = 6)
10.	- 21, 0 + 17, 0 % (n = 5)	- 12, 2 + 10, 6 % (n = 5)	+ 23, 4 + 32, 7 % (n = 5)

Mit unverdünntem Serum wurden als letztes verschiedene Toxikosekranke untersucht. Es wurden 8 Fälle an 50 Tieren getestet. Allen Patientinnen, die neben ihren übrigen Vergiftungserscheinungen wie Ödemen, Varizen und Eiweiß im Urin, einen Blutdruck von 160 RR und mehr hatten, wurde Blut zum Erdkrötenest entnommen und zwar vor Beginn der medikamentösen Behandlung. Bis die Tiere zum Versuch vorbereitet sein konnten, wurde das Blut in einer Tiefkühltruhe aufbewahrt, nachdem vorher an einer Testlösung

festgestellt war, daß durch diese Art der Lagerung das Adiuretin nicht an Wirksamkeit verliert.

Die Ergebnisse der Toxikoseserien sind für die einzelnen Fälle recht unterschiedlich, als Durchschnittswert der 8 Untersuchungen resultiert für die

1. Stunde: $- 13,05 \pm 5,0 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$),
2. Stunde: $+ 0,8 \pm 5,8 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$),
3. Stunde: $+ 17,9 \pm 7,5 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$).

In Abb. 9 b ist die Wirkung jedes einzelnen Toxikoseserums aufgezeichnet. Folgende Tabelle zeigt zu Abb. 9 b wiederum den Mittelwert des jeweilig mit demselben Serum gespritzten Tierkollektivs und die Standardabweichung des Mittelwertes.

Tabellarische Übersicht zu den Kurven der Abb. 9 b:

Versuchs- person:	$\bar{x} \pm S\bar{x}$		
	1.Std. nach Inj.	2.Std. nach Inj.	3.Std. nach Inj.
1.	$- 44,6 \pm 20,1 \%$ (n = 5)	$- 3,8 \pm 27,9 \%$ (n = 5)	$- 0,6 \pm 22,6 \%$ (n = 5)
2.	$+ 3,8 \pm 7,8 \%$ (n = 5)	$- 11,0 \pm 10,9 \%$ (n = 5)	$+ 10,9 \pm 17,7 \%$ (n = 5)
3.	$- 12,0 \pm 12,8 \%$ (n = 7)	$+ 13,6 \pm 22,6 \%$ (n = 7)	$+ 40,9 \pm 33,0 \%$ (n = 7)
4.	$- 25,7 \pm 13,8 \%$ (n = 8)	$- 14,0 \pm 11,8 \%$ (n = 8)	$+ 14,3 \pm 9,8 \%$ (n = 8)
5.	$- 35,6 \pm 9,9 \%$ (n = 7)	$- 4,6 \pm 16,5 \%$ (n = 7)	$+ 2,1 \pm 18,5 \%$ (n = 7)
6.	$+ 6,6 \pm 10,2 \%$ (n = 7)	$+ 7,7 \pm 11,9 \%$ (n = 7)	$+ 22,7 \pm 12,4 \%$ (n = 7)
7.	$- 9,1 \pm 9,9 \%$ (n = 7)	$+ 9,8 \pm 12,7 \%$ (n = 7)	$+ 28,7 \pm 16,5 \%$ (n = 6)
8.	$+ 27,2 \pm 17,2 \%$ (n = 4)	$+ 9,7 \pm 21,9 \%$ (n = 4)	$+ 58,0 \pm 33,4 \%$ (n = 4)

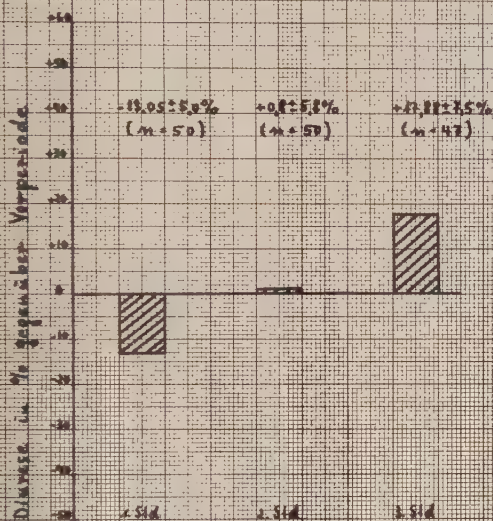


Abb 8a: Durchschnittswerte der
Toxikose - Serien 1-8

Es werden die Mittelwerte u. ihre
Standardabweichung angegeben: $\bar{x} \pm s$

Die Mittelwerte bedeuten Diuresenkennung
bzw. Diuresesenkung in %

n = Anzahl der Versuchstiere

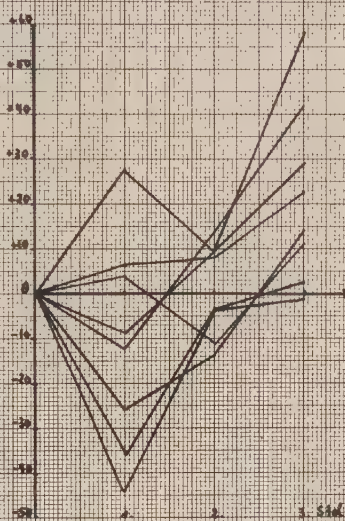


Abb 8b: Einzelkurven der
Toxikose - Serien 1-8

Auch die Toxikosereren haben einen großen Streuungsbereich, und zwar für die

1. Stunde zwischen: - 44,6 und + 27,2 ‰,
2. Stunde zwischen: - 11,0 und + 9,8 ‰,
3. Stunde zwischen: - 0,6 und + 58,0 ‰.

ad III) Klinische Fälle mit nach Buchborn 1:1 verdünntem Plasma

In Parallelversuchen wurde nun während einer zweiten Versuchsreihe an 235 Tieren das nach Buchborn mit Aqua dest. 1:1 verdünnte Plasma von 42 Patientinnen getestet. Die verabreichte Menge betrug wieder 0,5 ml/10 g Körpergewicht.

Als erstes wurde 6 gesunden Frauen Blut aus der Cubitalvene entnommen, in der angegebenen Weise die Verdünnung des Plasmas hergestellt, um es dann an 40 Kröten auf seinen Adiuretingehalt zu prüfen. Da es sich bei den vorangegangenen Versuchen gezeigt hat, daß die Ergebnisse der 3. Std. (nach Injektion) für die Auswertung des Testmaterials nicht mehr von Bedeutung sind, wurde im folgenden auf ihre Aufzeichnung verzichtet.

Abb. 10 zeigt die Ergebnisse.

In Abb. 10 a ist die durchschnittliche Diuresezunahme ein und zwei Stunden nach Injektion des Normalplasmas der 6 Versuchspersonen aufgezeichnet; sie beträgt für die

1. Stunde: + 35,0 + 5,3 ‰ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) und für die
2. Stunde: + 19,6 + 8,6 ‰ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$).

In Abb. 10 b sind die 6 Fälle noch einmal einzeln zur graphischen Darstellung gebracht. Das Plasma einer Frau wurde jeweils einem Kollektiv von 6 - 8 Kröten injiziert.

In der folgenden Tabelle sind zu den Kurven der Abb. 10 b die 6 einzelnen Mittelwerte und ihre Standardabweichung ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) angegeben.

n = Anzahl der Versuchstiere.

Tabellarische Übersicht zu den Kurven der Abb. 10 b:

Versuchs- person:	$\bar{x} \pm \bar{Sx}$	
	1. Std. nach Inj.	2. Std. nach Inj.
1.	+ 39,1 $\pm$ 9,5 % (n = 7)	+ 34,6 $\pm$ 32,7 % (n = 7)
2.	+ 55,9 $\pm$ 9,4 % (n = 7)	+ 38,3 $\pm$ 24,6 % (n = 7)
3.	+ 14,8 $\pm$ 15,6 % (n = 5)	+ 25,4 $\pm$ 11,3 % (n = 5)
4.	+ 5,8 $\pm$ 20,0 % (n = 5)	+ 10,8 $\pm$ 12,5 % (n = 5)
5.	+ 29,4 $\pm$ 6,3 % (n = 8)	+ 2,3 $\pm$ 17,3 % (n = 8)
6.	+ 49,8 $\pm$ 10,6 % (n = 8)	+ 9,4 $\pm$ 15,9 % (n = 8)

Anhand dieser Einzelwerte ergibt sich als Streuungsbreite der 6 Plasma-Injektionen für die

1. Stunde die Spanne von + 5,8 % bis + 55,9 %,
2. Stunde die Spanne von + 2,3 % bis + 38,3 %.

Anschließend wurde als Parallelversuch zu den unverdünnten Blutseren der Volhard'schen Konzentrationstage das verdünnte Plasma von 8 Frauen nach 24 Stunden strengem Dursten untersucht. Die Tiergruppe umfaßte wieder 46 Kröten, wobei jeweils einem Kollektiv von 4 - 5 das Plasma derselben Versuchsperson injiziert wurde.

Abb. 11a zeigt den Durchschnittswert der 8 Testreihen. Er beträgt für die

1. Stunde: + 32,2 $\pm$ 9,6 % ($\bar{x} \pm \bar{Sx}$),
2. Stunde: + 22,9 $\pm$ 6,6 % ($\bar{x} \pm \bar{Sx}$).

Abb. 11 b bringt die Aufzeichnungen der Einzelkurven, die folgende Tabelle die Mittelwerte und ihre Standardabweichung, berechnet für jedes der 8 Tierkollektive. n = Anzahl der Versuchstiere.

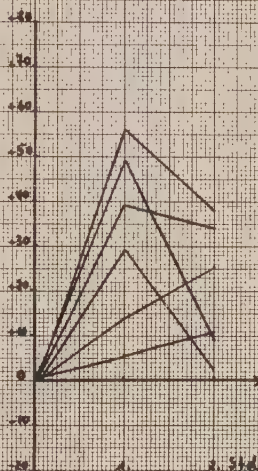
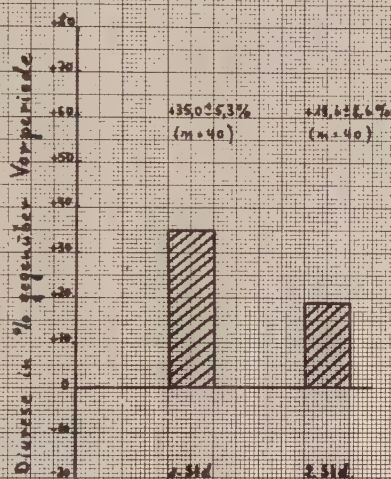


Abb. 10a: Durchschnittswerte des
Normal-Plasmas 1-6
Plasma 4 ist mit 20% dest. verdünnt

Es werden die Mittelwerte u. ihre
Standardabweichung angegeben:
 $\bar{x} \pm s$

Die Mittelwerte bedeuten Diuresis-
hemmung bzw. Diuresissteigerung
in %

n = Anzahl der Versuchstiere

Abb. 10b: Einzelkurven
des
Normal-Plasmas
1-6

Tabellarische Übersicht zu den Kurven der Abb. 11 b:

Versuchs- person:	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	
	1. Std. nach Inj.	2. Std. nach Inj.
1.	+ 55, 2 $\pm$ 32, 0 % (n = 4)	+ 37, 5 $\pm$ 28, 8 % (n = 4)
2.	+ 57, 0 $\pm$ 30, 7 % (n = 5)	+ 10, 0 $\pm$ 13, 8 % (n = 5)
3.	+ 45, 3 $\pm$ 18, 3 % (n = 7)	+ 6, 0 $\pm$ 13, 9 % (n = 7)
4.	+ 24, 9 $\pm$ 25, 7 % (n = 8)	+ 41, 5 $\pm$ 14, 9 % (n = 8)
5.	+ 55, 2 $\pm$ 8, 7 % (n = 4)	+ 30, 7 $\pm$ 16, 6 % (n = 4)
6.	- 16, 0 $\pm$ 18, 5 % (n = 4)	+ 30, 0 $\pm$ 13, 3 % (n = 4)
7.	+ 20, 0 $\pm$ 42, 6 % (n = 4)	- 5, 7 $\pm$ 17, 2 % (n = 4)
8.	+ 30, 0 $\pm$ 26, 6 % (n = 4)	+ 33, 7 $\pm$ 30, 8 % (n = 4)

Der Streubereich erstreckt sich in der

1. Stunde von: - 16, 0 % bis + 57, 0 % und in der
2. Stunde von: - 5, 7 % bis + 41, 5 %.

Als nächstes wurde 34 Kröten das verdünnte Plasma von 7 Frauen, die im 10. Graviditätsmonat waren, injiziert. Das Ergebnis für die durchschnittliche Diuresesteigerung ist in Abb. 12 a aufgezeichnet. Es lautet für die

1. Stunde + 54, 7 $\pm$ 10, 7 % ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) und für die
2. Stunde + 35, 3 $\pm$ 10, 3 % ($\bar{x} \pm S\bar{x}$).

Aus Abb. 12 b sind die Einzelergebnisse ersichtlich. Dargestellt ist der Mittelwert und seine Standardabweichung eines jeden der 7 Tierkollektive.

Tabellarische Übersicht zu den Kurven der Abb. 12 b:

Versuchs- person:	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	
	1. Std. nach Inj.	2. Std. nach Inj.
1.	- 8,4 $\pm$ 22,3 % (n = 5)	+ 8,2 $\pm$ 13,0 % (n = 5)
2.	+ 50,0 $\pm$ 11,9 % (n = 5)	+ 30,8 $\pm$ 24,9 % (n = 5)
3.	+ 75,0 $\pm$ 14,9 % (n = 4)	+ 44,2 $\pm$ 24,8 % (n = 4)
4.	+ 128,0 $\pm$ 43,6 % (n = 4)	+ 46,0 $\pm$ 28,4 % (n = 4)
5.	+ 30,8 $\pm$ 7,8 % (n = 8)	+ 45,5 $\pm$ 34,0 % (n = 8)
6.	+ 21,2 $\pm$ 15,6 % (n = 4)	+ 34,2 $\pm$ 33,3 % (n = 4)
7.	+ 128,0 $\pm$ 23,4 % (n = 4)	- 18,2 $\pm$ 7,4 % (n = 4)

Die Werte des Schwangeren-Plasmas streuen auffallend breit. In der

1. Stunde von - 8,4 % bis + 128,0 % und in der

2. Stunde von - 18,2 % bis + 56,5 %.

Bei den Paralleluntersuchungen zu den Toxikosekranken wurde in der Aus-
testung des Plasmas unterschieden zwischen Blutproben, die unmittelbar nach
der Entnahme aus der Cubitalvene den Kröten verabreicht wurden und solchen,
die erst nach mehrtägiger Aufbewahrung in eingefrorenem Zustand in der Kühl-
truhe den Versuchstieren injiziert wurden.

Von 6 Patientinnen konnte das Plasma sofort, d. h. in frischem Zustand, auf
seinen Adiuretingehalt geprüft werden.

Abb. 13 a zeigt, daß auch bei den Toxikosekranken keine Diuresehemmung

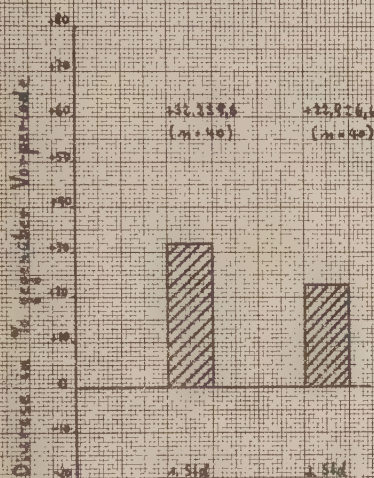


Abb. 11a: Durchschnittswerte des Plasmas 1-6 nach 20 h Durst. Plasma mit Aqua dest. 1:1 verdünnt

Es wurden die Mittelwerte u. ihre Standardabweichung angegeben.
n = 40

Die Mittelwerte bedeuten Differenz-
erhöhung bzw. Differenzminderung
in %
im Vergleich des Kontrollstadiums

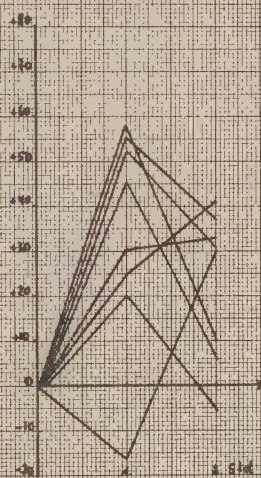


Abb. 11b: Einzelkurven des Plasmas 1-6 nach 20 h Durst.

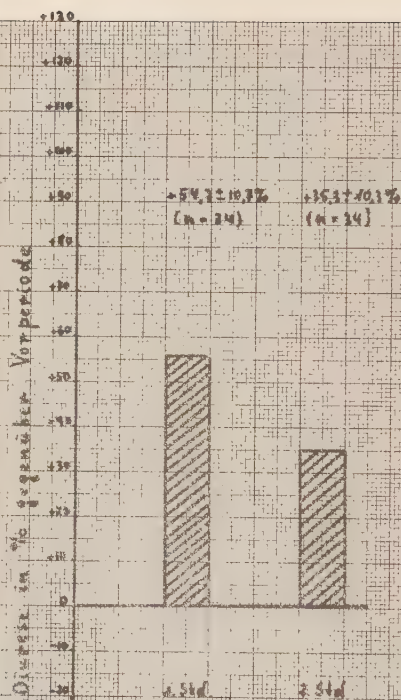


Abb. 12a: Durchschnittswerte der Schwängere-Plasma 1-2 Plasma 1-1 mit Biqu. versch. verdünnt

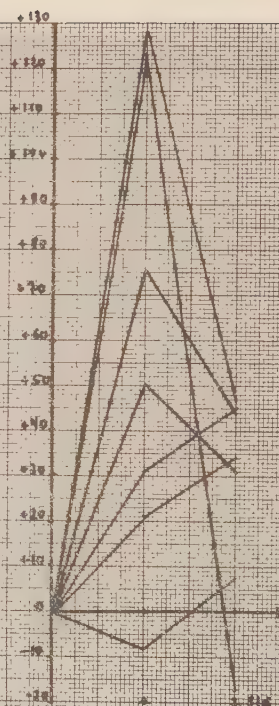


Abb. 12b: Einzel-Kurven der Schwäng.-Plasma 1-2

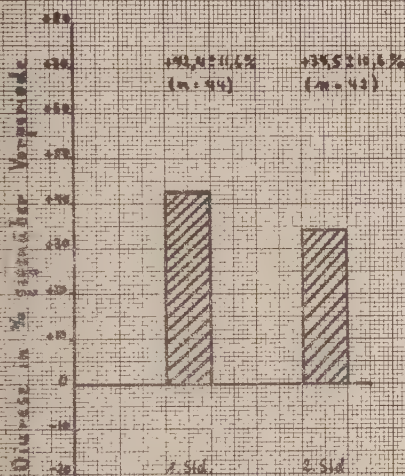


Abb. 13a: Durchschnittswerte des
Insulin- Glukose- A-b
Maßstab mit Sign. d. versch.

Es wurden die Mittelwerte u.
ihre Standardabweichung
angegeben: $\bar{x} \pm s$

Die Mittelwerte bedeuten
Durchschnittswerte der
Glukose in %
im Verlauf der Versuchsreihe
Nahrung wurde frisch gegeben

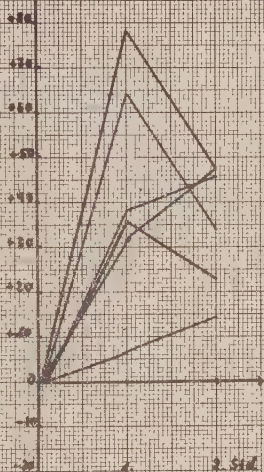


Abb. 13b: Einzelkurven des
Insulin- Glukose-
Maßstab

festzustellen war, sondern eine durchschnittliche Diuresesteigerung von
 + 42,4 + 11,6 % nach der 1. Stunde und von
 + 34,5 + 10,6 % nach der 2. Stunde.

Abb. 13 b bringt die Einzelkurven der 6 Toxikose-Untersuchungen. Angegeben ist der Mittelwert und seine Standardabweichung ($\bar{x} \pm S\bar{x}$).

Tabellarische Übersicht zu den Kurven der Abb. 13 b:

Versuchs- person:	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	
	1. Std. nach Inj.	2. Std. nach Inj.
1.	+ 6,4 + 17,7 % (n = 8)	+ 14,1 + 14,9 % (n = 8)
2.	+ 63,8 + 25,1 % (n = 8)	+ 34,1 + 18,5 % (n = 7)
3.	+ 38,3 + 32,3 % (n = 7)	+ 45,2 + 47,1 % (n = 6)
4.	+ 31,6 + 27,7 % (n = 7)	+ 47,3 + 37,2 % (n = 7)
5.	+ 78,4 + 31,7 % (n = 7)	+ 47,0 + 21,0 % (n = 7)
6.	+ 38,0 + 30,4 % (n = 7)	+ 23,6 + 20,5 % (n = 7)

Der Streuungsbereich erstreckt sich für die

1. Stunde von: + 6,4 + 78,4 % und für die
2. Stunde von: + 14,1 + 47,3 %.

Von weiteren 15 Toxikosepatientinnen wurde das Plasma bis zu Versuchsbeginn in der Kühltruhe gelagert. Das Ergebnis des Testes ist in Abb. 14 a festgehalten. Nach der 1. Stunde wurde eine durchschnittliche Diuresesteigerung von

- + 35,6 + 5,6 % ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) erreicht und nach der 2. Stunde von
- + 26,7 + 7,9 % ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), womit kaum eine Differenz zu den Werten des frisch injizierten Plasmas besteht.

Tabellarische Übersicht zu den Kurven der Abb. 14 b:

$$\bar{x} + S\bar{x}$$

Versuch-
person:

1. Std. nach Inj.

2. Std. nach Inj.

Versuch- person:	1. Std. nach Inj.	2. Std. nach Inj.
1.	+ 26, 7 + 15, 7 % (n = 7)	+ 13, 6 + 10, 3 % (n = 7)
2.	+ 69, 9 + 14, 8 % (n = 8)	+ 53, 8 + 24, 5 % (n = 8)
3.	+ 35, 8 + 19, 5 % (n = 8)	+ 51, 0 + 15, 0 % (n = 8)
4.	+ 74, 5 + 22, 4 % (n = 8)	+ 36, 5 + 16, 9 % (n = 8)
5.	+ 15, 0 + 8, 2 % (n = 4)	- 3, 0 + 22, 5 % (n = 4)
6.	+ 62, 0 + 23, 9 % (n = 4)	+ 50, 0 + 24, 8 % (n = 4)
7.	+ 7, 0 + 32, 0 % (n = 4)	+ 16, 0 + 30, 3 % (n = 4)
8.	+ 16, 0 + 16, 9 % (n = 4)	+ 31, 0 + 14, 4 % (n = 4)
9.	+ 63, 0 + 30, 1 % (n = 4)	+ 38, 0 + 29, 7 % (n = 4)
10.	+ 27, 0 + 13, 6 % (n = 4)	+ 8, 0 + 23, 1 % (n = 4)
11.	+ 15, 0 + 23, 1 % (n = 6)	+ 14, 0 + 16, 3 % (n = 6)
12.	+ 22, 0 + 34, 5 % (n = 4)	+ 8, 0 + 20, 7 % (n = 4)
13.	- 13, 0 + 26, 9 % (n = 4)	+ 12, 0 + 10, 7 % (n = 4)
14.	+ 34, 0 + 17, 7 % (n = 4)	+ 13, 0 + 28, 2 % (n = 4)
15.	+ 22, 0 + 22, 6 % (n = 4)	+ 17, 0 + 20, 2 % (n = 4)

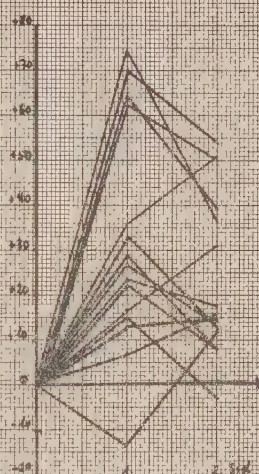
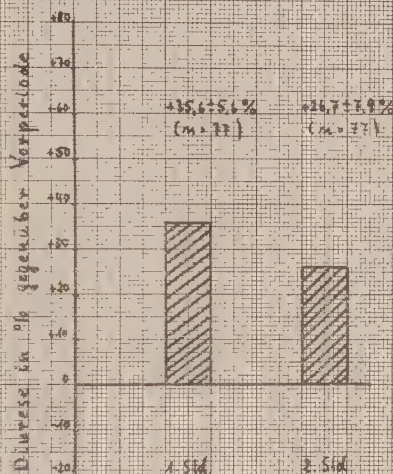


Abb. 14a: Durchschnittswerte des Ion.konz.-Plasmas 1-45.
 Plasma 1. und 2. vord.
 Es werden die Mittelwerte u. ihre Standardabweichung angegeben: ± 5.5 .
 Die Mittelwerte bedeuten Durchschnittswerte bzw. -schwankung in % m. Hinsicht der Versuchstiere.
 Das Plasma wurde bis zu 67g in der Kulturschale eingefüllt.
 Zustand aufgezogen.

Abb. 14b: Einzelkurven des Ion.konz.-Plasmas 1-45.

Abb. 14 b veranschaulicht die Einzelergebnisse der 15 Untersuchungen und bringt damit den Streubereich von

- 13,0 bis + 74,5 % für die 1. Stunde und
- 3,0 bis + 53,8 % für die 2. Stunde.

Die Gesamtuntersuchung wurde an 77 Tieren durchgeführt.

Angegeben ist der Mittelwert und seine Standardabweichung, errechnet aus dem mit demselben Plasma injizierten Tierkollektiv. ($\bar{x} \pm \bar{Sx}$)

n = Anzahl der Versuchstiere.

Zum Abschluß des biologischen Adiuretintestes an der Erdkröte wurden vergleichsweise noch 2 Versuche an einem Kollektiv von je 16 Tieren durchgeführt. Die eine Tiergruppe erhielt eine Injektion einer 0,45 %igen NaCl-Lösung + 100 μ E Vasopressin im ml und die andere eine Injektion von Normalplasma 1 : 1 verdünnt + 100 μ E Vasopressin im ml. Von beiden Flüssigkeiten wurden pro 10 g Körpergewicht 0,5 ml gespritzt.

Die physiologische Kochsalzlösung mit den 100 μ E Vasopressin/ml verursachte eine durchschnittliche Diuresehemmung von

- 26,8 $\pm$ 9,6 % ($\bar{x} \pm \bar{Sx}$) nach der 1. Stunde und
- 25,1 $\pm$ 12,5 % ($\bar{x} \pm \bar{Sx}$) nach der 2. Stunde.

Das verdünnte Normalplasma + 100 μ E Vasopressin/ml hatte eine durchschnittliche Diuresehemmung von

- 34,6 $\pm$ 8,6 % nach der 1. Stunde und
- 31,7 $\pm$ 8,2 % ($\bar{x} \pm \bar{Sx}$) nach der 2. Stunde zur Folge.

DISKUSSION

I. Besprechung der in der Literatur beschriebenen unterschiedlichen Versuchsergebnisse

Angesichts der zahlreichen, verschiedenartigen Methoden, die bisher zum Adiuretin-Nachweis angewandt wurden, ist es erklärlich, daß trotz vieler umfangreicher Forschungen auf den vier Untersuchungsgebieten der vorliegenden Arbeit - nämlich:

1. ADH bei Normal-Personen,
2. ADH im Blut nach Volhard'schem Konzentrationstag,
3. ADH im Blut von Normal-Schwangeren und
4. ADH im Blut von Toxikose-Kranken -

noch keine einheitlichen Ergebnisse über die Höhe des Adiuretin-Vorkommens erzielt wurden. Während auf der einen Seite viele Autoren einen Adiuretin-Nachweis beschrieben haben, gibt es im Gegensatz hierzu eine gleichgroße Zahl von Untersuchern, die mit ihren Methoden keinen signifikanten Adiuretin-Nachweis erbringen konnten.

Gegliedert nach den vier Untersuchungsgebieten dieser Arbeit soll zunächst eine Aufstellung der unterschiedlichen Versuchsergebnisse vorangestellt werden, wie sie bisher in der Literatur beschrieben worden sind:

1. Adiuretin bei Normal-Personen

- a) ADH nachgewiesen: Dicker und Ginsburg, 1950, (33) injizierten hydrierten Ratten subkutan Nativserum und beobachteten einen antidiuretischen Effekt entsprechend etwa 1,5 mE Vasopressin/2,0 ml Serum. S. E. Dicker, 1953, (34) stellte sowohl im Serum als auch im Plasma der mit "chloralose" anaesthesierten Ratten eine Antidiurese fest, die etwa $30\mu\text{E}$ Vasopressin/1,0 ml entsprach; das Testmaterial wurde i. v. in Nativform an Ratten verabreicht. Robinson et al., 1957, (95) fanden an der Ratte nach i. v. -Injektion von Blutextrakt eine Diuresehemmung entsprechend $6-22\mu\text{E}$ Vasopressin/1,0 ml. Bisset und Lee, 1957, (16) beobachteten nach i. v. -Injektion von extrahiertem Normal-Plasma an der Ratte eine antidiuretische Wirkung.
- b) ADH nicht nachgewiesen: Dicker und Ginsburg, 1950, (33) injizierten sowohl dehydrierten als auch normalen Ratten subkutan mit Heparin versetztes Nativ-Plasma und konnten im Gegensatz zu dem oben aufgeführten Serum-Versuch keinen antidiureti-

schen Effekt nachweisen. S. E. Dicker, 1953, (34) konnte in einem Parallelversuch, bei dem er das Serum und Plasma von Ratten verwendete, die unter Alkohol-Anaesthesie standen, nach i.v.-Injektion des Testmaterials in Nativform keine Antidiurese beobachten. Noble und Taylor, 1953, (87) spritzten den Ratten Urin-Extrakt von Normal-Personen subkutan und intraperitoneal ein, ohne ein antidiuretisches Ergebnis zu bekommen. Paterson, 1954, (90) versuchte erfolglos, mit Papier-Chromatographie im Urin von Normal-Personen ein dem hypophysären Adiuretin entsprechendes Polypeptid zu erfassen. Niels, Thorn et al., 1957, (85) injizierten subkutan an Ratten ein Ratten-Serum, aus dem ein Ultra-Filtrat hergestellt worden war, ohne eine antidiuretische Wirkung zu erzielen. Hawker, 1957, (59) konnte nach einer i.v.-Injektion von Normalplasma und Normalserum, wovon ersteres mit Heparin versetzt war, an Ratten keine Antidiurese finden.

2. Adiuretin nach Volhard'schem Konzentrationstag

- a) ADH nachgewiesen: Gilman und Godman, 1937, (50) benutzten bei der Injektion ihrer Ratten den Urin dehydrierter Ratten und stellten einen antidiuretischen Effekt fest. Lewis, 1953, (78) verabreichte hydrierten Ratten intraperitoneal das Serum von Versuchspersonen nach 12 Stunden Durst; er fand eine Diuresehemmung, die 2 mE Pitressin/1,0 ml entspricht. Das Medizinische Periskop, 1956, (80) beschreibt einen Versuch, bei dem man Menschenblut nach 24 Stunden Durst an Ratten i.v. injizierte; dabei ergab sich eine konstante Antidiurese, während dasselbe Blut bei Re-Injektion am Menschen nur eine kaum merkbare Antidiurese zeigte, die wesentlich geringer war als die Wirkung einer Pitressinlösung von 0,01 mE/1,0 ml.
- b) ADH nicht nachgewiesen: Lewis, 1953, (78) re-injizierte das nach 12 Stunden Durst entnommene Blut wieder dem Blutspender und konnte im Gegensatz zu seinem Rattentest keine auffallende Diuresehemmung bemerken. S. E. Dicker, 1957, (37) hat anhand osmotischer Clearance-Messungen dargestellt, daß die Konzentrierung und Volumenreduktion des Urins nach längerer Durstzeit nicht auf eine erhöhte ADH-Ausschüttung zurückzuführen ist, sondern durch Abnahme der Glomerulus-Filtration bedingt wird. Vorherr und Friedberg, 1959, (125) fanden bei Versuchspersonen, denen Blut nach 24-stündigem Dursten entnommen worden

war, nach i.v.-Injektion an der Ratte weder diuretische noch anti-diuretische Substanzen.

3. Adiuretin bei Normal-Schwangeren

- a) ADH nachgewiesen: Robinson, 1957, (95) injizierte einen Blutextrakt von Schwangeren i.v. bei Ratten und erhielt eine Diuresehemmung entsprechend 21 - 64 μ E Vasopressin/1,0 ml. Hawker, 1957, (60) spritzte das Nativserum gleichfalls bei Ratten i.v. und stellte eine antidiuretische Substanz fest. Zuspan, 1958, (132) fand im Urin Schwangerer eine antidiuretische Komponente.
- b) ADH nicht nachgewiesen: Paterson, 1954, (90) stieß bei seinen Untersuchungen mit Papier-Chromatographie auf keine nachweisbaren antidiuretischen Stoffe. Hughes, 1954, (66) fand im Serum keine erhöhte ADH-Ausschüttung während der normalen Schwangerschaft. Hawker, 1957, (60) entdeckte im Plasma nach i.v.-Injektion bei Ratten kein ADH. Vorherr und Friedberg, 1959, (125) vermochten nach i.v.-Injektion von Nativserum und -plasma keine antidiuretische Wirkung festzustellen.

4. Adiuretin bei Toxikose-Kranken

- a) ADH nachgewiesen: Anselmino und Hoffmann, 1931, (2) fanden bei subkutaner Injektion eines aus dem Blut von Eklampsie-Kranken hergestellten Ultrafiltrates eine antidiuretische Reaktion. Paterson, 1954, (90) beschreibt bei seinen Untersuchungen der Gestose-Patientinnen mit Papier-Chromatographie ein Polypeptid, das er als identisch mit dem Hypophysenhinterlappenhormon ansieht. Theobald, 1955, (112) extrahierte im Jahre 1935 Blut eklamptischer Frauen mit einem Collodium-Filter und fand im Serum-Extrakt eine antidiuretische Substanz. Hawker, 1957, (60) prüfte mit seiner Methode das Serum und Plasma praeeklampsischer Frauen und kam zu einem positiven Ergebnis. Zuspan, 1958, (132) untersuchte wieder den Urin der Toxikose-Kranken und bemerkte eine stark antidiuretische Komponente. Creary et al., 1958, (29) testeten Toxikose-Plasma nach subkutaner Injektion an Ratten und Kaninchen, wobei ihnen eine Wasserretention gestuft nach der Schwere der Praeeklampsie auffiel.
- b) ADH nicht nachgewiesen: Byrom und Wilson, 1934 (24), Hurwitz und Bullock, 1935, (67), Levitt, 1936, (79) und Krieger und Kilvington, 1946, (75) konnten in den Se-

ren eklamptischer Frauen keine antidiuretischen Substanzen feststellen (zitiert nach Theobald, a.a.O.). Hughes, 1954, (66) fand im Serum keine erhöhte ADH-Ausschüttung bei Eklampsien. Theobald et al., 1955, (112) injizierten Urin von hochschwangeren, an Hypertonie und Oligurie leidenden Frauen i.v. beim Hund und entdeckten keinerlei antidiuretische Wirkung. Vorherr und Friedberg, 1959, (125) gelang es trotz ihrer sehr präzisen Ratten-Methoden nicht, im Toxikose-Plasma und -serum eine antidiuretische Substanz nachzuweisen.

Im folgenden soll nun zu den oben erfaßten und erläuterten Ergebnissen Stellung genommen werden. Es kommt im wesentlichen darauf an zu zeigen, daß die vorhandenen Widersprüche auf Fehlerquellen der jeweils angewandten Methode zurückzuführen sind. Auf Grund der ADH-Nachweis-Methoden von Dettelbach, Friedberg und Vorherr, die an Präzision allen früheren Methoden überlegen sind, muß angenommen werden, daß der tatsächliche ADH-Gehalt sowohl unter normalen als auch unter pathologischen Umständen so gering ist, daß er keinesfalls durch die anderen, weniger exakten Methoden erfaßt werden kann.

Hierzu sind die von Schröder (101) zusammengestellten Untersuchungen über die Wirksamkeit von intravenös zugeführtem ADH und dessen zu erwartende Ausbreitung im Plasma von großem Interesse. Schröder berichtet, daß Theobald bereits als erster nachweisen konnte, daß beim Menschen 5000 - 10000 μ E intravenös schon genügen, um die Diurese nach Wasserbelastung wieder auf den Ausgangswert zu senken. Dies bedeutet, daß selbst wenn das ADH sich nur auf das Plasma verteilen würde, schon weniger als 2 - 4 μ E/ml ausreichen, um eine Antidiurese zu erzielen. Ähnliche Werte verzeichnete Shanon bei Hunden mit Diabetes insipidus. Intravenöse Dauerinfusion von 1000 - 5000 μ E/Std. bewirkt bei Tieren von 10 - 15 kg Gewicht wieder einen Urinfluß wie beim Normaltier. Auch Lauson kam zu dem Ergebnis, daß beim wasserbelasteten Menschen eine intravenöse Dauerinfusion von 16 000 μ E/Std. eine maximale Antidiurese erzeugt und bereits 6300 μ E/Std. verringerten den Urinfluß bei einem 70 kg schweren Mann von 1 ml/Min. auf 1,6 ml/Min. Unter der Annahme, daß ADH sich nur im Plasma verteilt, würden demnach beim Menschen etwa 3 μ E ADH/ml genügen, um eine maximale physiologische Antidiurese hervorzurufen. Rechnet man aber damit, daß ADH sich auch auf Teile der extravasalen extracellulären Flüssigkeit ausbreitet - wie es wahrscheinlich der Fall ist -, so sind zum Zeitpunkt der

Antidiurese im menschlichen Plasma größenordnungsmäßig weniger als $1\mu\text{E ADH/ml}$ zu erwarten.

Der ADH-Plasmaspiegel des Menschen muß also auf Grund dieser Befunde im Bereich von $1\mu\text{E/ml}$ und weniger liegen. Es gibt bisher kein Nachweisverfahren, das empfindlich genug wäre, diese Werte und vor allem Schwankungen in dieser Größenordnung zu registrieren, so daß folglich Angaben über einen höheren ADH-Plasmaspiegel auf unspezifische antidiuretische Reaktionen zurückgeführt werden müssen.

Die Fehlerquellen bei den Arbeiten derjenigen Autoren, die einen positiven ADH-Nachweis beschrieben haben, werden mit hoher Wahrscheinlichkeit in den folgenden Versuchsmodalitäten zu suchen sein:

- a) Bei subkutaner oder bei intraperitonealer Injektion des Testmaterials ist der durch den Einstich hervorgerufene Schmerz so intensiv, daß eine endogene ADH-Ausschüttung bewirkt wird, die zu einem unbrauchbaren Versuchsergebnis führt (80).
- b) Bei der Herstellung von Blutextrakten entstehen nicht nur unspezifische Kunstprodukte, sondern das möglicherweise im Testmaterial vorhandene Adiuretin verliert auch erheblich an Wirksamkeit. Dies zeigten Bisset und Lee, 1957, (16), indem sie dem Testmaterial vor der Extraktion Vasopressin-Reinsubstanz in verschiedenen Konzentrationen zusetzten, wovon nach durchgeführtem Extraktionsverfahren etwa $1/3$ verlorengegangen war.
- c) Es ist bisher in der Literatur (vgl. Theobald, a. a. O., Kap. X) noch kein eindeutiger Nachweis dafür erbracht worden, daß überhaupt ADH noch im Urin zu erwarten ist. Es muß aber jedenfalls davon ausgegangen werden, daß sich im Urin noch unbekannte, unspezifisch wirkende diuretische und antidiuretische Stoffe befinden, die den Urin als Testflüssigkeit für den ADH-Nachweis ungeeignet erscheinen lassen.

Eine Bestätigung der Fehlerhaftigkeit derjenigen Methoden, die einen positiven ADH-Nachweis beschrieben haben, ergibt sich für den Bereich des Schwangersenblutes eindeutig aus folgender Tatsache: Hawker, 1957, (60) und Friedberg et al., 1960, (44) haben gezeigt, daß im Plasma und im Serum von Schwangeren eine starke adiuretin-zerstörende Wirkung enthalten ist; $20\mu\text{E}$ Vasopressin, die dem Plasma oder Serum von Nichtschwangeren zugesetzt wurden und die über 15 min im Brutschrank bei 37°C inkubiert worden waren, konnten nach dieser Zeit noch gut nachgewiesen werden, während

das Plasma von Normalschwangeren die zugesetzte Menge von $10\,000\mu\text{E}$ Adiuretin vollständig abbaute. Erst der Zusatz von $20\,000 - 40\,000\mu\text{E}$ Adiuretin ermöglichte im Blut von Normalschwangeren nach entsprechender Inkubation im Brutschrank einen ADH-Nachweis.

II. Besprechung der eigenen Versuchsergebnisse

Die vorliegende Arbeit, die auf der von Buchborn verwandten Erdkrötenmethode (s. oben S.19) aufbaut, widerspricht nicht den exakten Untersuchungen von Dettelbach und Friedberg und Vorherr zum Adiuretin-Nachweis an der Ratte. Demgegenüber kommt Buchborn zu abweichenden Ergebnissen.

Die zur Prüfung der Empfindlichkeit der Erdkröte aufgezeichnete Eichkurve als Regressionsgerade (Abb.4) zeigt eine lineare Abhängigkeit der Diuresehemmung von der applizierten Adiuretinmenge. Die Ansprechbarkeit der Kröten lag im Bereich von $0,01\text{ mE}$ Vasopressin bis $2,5\text{ mE}$ Vasopressin in $0,5\text{ ml}$ pro 10 gr. Körpergewicht. Es muß hierbei berücksichtigt werden, daß die Diuresehemmung, die nach Injektion von $0,01\text{ mE}$ Vasopressin auftrat, bei einer Kontrollinjektion mit aqua dest. beobachtet wurde, während sich eine eindeutige Diuresehemmung gegenüber der Vorperiode erst nach Injektion von $0,05\text{ mE}$ Vasopressin zeigte. Die aufgestellte Regressionsgerade stimmt mit der von Buchborn überein, desgleichen wurde dieselbe untere Empfindlichkeitsgrenze von $0,01\text{ mE}$ Vasopressin bestätigt. Die obere Empfindlichkeitsgrenze ist bei der vorliegenden Arbeit mit $2,5\text{ mE}$ Vasopressin um $1,5\text{ mE}$ Vasopressin höher als bei Buchborn, dessen Testtiere nur bis zu $1,0\text{ mE}$ Vasopressin ansprachen.

Von den durchgeführten Blutuntersuchungen soll zunächst die Gruppe diskutiert werden, bei der das Plasma nach dem Originalversuch von Buchborn im Verhältnis $1 : 1$ mit aqua dest. verdünnt wurde. Buchborn hat in seiner Methode das Plasma von gesunden,hydrierten und dehydrierten Personen sowie von Patienten mit pathologischer Wasserretention untersucht und dabei in allen Fällen einen ADH-Spiegel gefunden, der sich zwischen $0,01\text{ mE}$ Vasopressin und $0,22\text{ mE}$ Vasopressin pro ml bewegte (20, 21). Im Gegensatz hierzu stehen die Ergebnisse dieser Arbeit, die weder bei Normalpersonen und Personen im dehydrierten Zustand einerseits, noch bei Schwangeren und Toxikose-Kranken andererseits eine signifikante Diuresehemmung infolge von ADH-Ausschüttung erfassen konnte. Bei der Austestung der verschiedenen Versuchsgruppen wurde nicht nur der Durchschnittswert aus den Reak-

tionen der beteiligten Tiere errechnet, sondern die Einzelreaktion eines jeden Tieres wurde getrennt aufgezeichnet. Daraus ist ersichtlich, daß die einzelnen Tiere, die unter denselben Bedingungen mit demselben Plasma injiziert wurden, sehr unterschiedlich reagiert haben. Diese großen Streuungsbereiche der einzelnen Versuchsgruppen lassen erkennen, daß die gewonnenen Durchschnittswerte keine zuverlässigen Aussagen über den tatsächlichen ADH-Gehalt des Testmaterials ermöglichen. Aus den Arbeiten Buchborn's (20, 21, 22) ist ein solch erstaunlich hoher Streuungsbereich nicht zu ersehen, und es fehlen die Angaben über die Reaktionen der einzelnen Versuchstiere.

Um noch auf einem anderen Wege zu bestätigen, daß in dem benutzten Blutmaterial in Wirklichkeit ein etwa nicht erfaßter ADH-Gehalt in der Höhe der von Buchborn angegebenen Werte vorhanden war, wurden die zwei Kontrollversuche, bei denen sowohl dem verdünnten Plasma als auch einer 45%-igen NaCl-Lösung 100 μ E Vasopressin zugesetzt wurden, gemacht (s.o.S.37). Die bei diesen Kontrollversuchen erzielten Diuresehemmungen entsprachen im wesentlichen den vergleichbaren Werten der Eichkurve.

In einer zweiten Gruppe von Versuchen wurde die Reaktion der Kröte auf unverdünntes Serum geprüft; hierzu liegen keine Paralleluntersuchungen Buchborn's vor. Bei dieser Versuchsreihe konnte zwar eine geringe, wenn auch nicht signifikante Diuresehemmung nach der 1. Stunde verzeichnet werden. Jedoch muß angenommen werden, daß dieser Hemmeffekt nicht auf das Vorhandensein von ADH im Testmaterial zurückzuführen ist, sondern auf einer unspezifischen Reaktion der Kröte beruht, deren Ursache in der Injektion von unverdünntem Serum, d.h. einer nicht physiologisch-konzentrierten Lösung, zu suchen ist. Außerdem fällt beim Vergleich der einzelnen Versuchsgruppen auf, daß auf der einen Seite die Diuresehemmung des Serums, entnommen während des Volhard'schen Harnflutstadiums (s. Abb. 6 a), größer ist als die des Normalserums (s. Abb. 5 a) und daß auf der anderen Seite das Schwangerenserum (s. Abb. 8 a) stärker hemmte als Toxikose-Serum (s. Abb. 9a). Diese Befunde können nicht mit der vorherrschenden Meinung in Einklang gebracht werden, daß gerade bei Hydrierung und bei Schwangerschaft der ADH-Gehalt herabgesetzt ist (Literatur s. oben). Auch ist es hier von Interesse festzustellen, daß die Einzelreaktionen der Tiere bei unverdünntem Serum noch wesentlich stärker differieren als bei verdünntem Serum; dieser noch größere Streuungsbereich kann ebenfalls keine zuverlässigen Aussagen über den wirklichen ADH-Gehalt des Testmaterials ermöglichen.

Zusammenfassung

Einleitend wird dieser Arbeit ein allgemeiner Teil vorausgeschickt, in dem erst einmal die Haupteergebnisse der Adiuretinforschung kurz zur Darstellung gebracht werden. Es werden folgende Vorfragen behandelt:

- I. Über die Chemie des Adiuretins
- II. Bildungsstätte des Adiuretins
- III. Physiologische Bedeutung des Adiuretins
- IV. Pathologisch-physiologische Bedeutung des Adiuretins

Anschließend wird in einem zweiten Hauptteil eine Übersicht über die Entwicklung der verschiedenen Adiuretinnachweismethoden der letzten Jahre angeführt.

Es folgt dann eine genaue Ausführung der eigenen Versuchsanordnung, in Anlehnung an diejenige von Buchborn, mit Auswertung der Versuchsreihen in Form graphischer Darstellung, wobei es zu folgenden Ergebnissen kam:

1. Die als Regressionsgerade aufgestellte Eichkurve zeigt eine lineare Abhängigkeit der Diuresehemmung von der applizierten Adiuretinmenge. Die untere Empfindlichkeitsgrenze der Kröte liegt bei 0,01 mE Vasopressin in 0,5 ml pro 10 g Körpergewicht. Diese Befunde stimmen mit denen von Buchborn überein.
2. Dagegen von Buchborn unterschieden sind die Ergebnisse nach Auswertung von menschlichen Plasma- bzw. Serumproben:
 - a) 1 : 1 verdünntes Plasma und unverdünntes Serum von Personen im Normalzustand bewirken keine signifikante Diuresehemmung. Der Mittelwert beträgt eine Stunde nach Injektion für die 6 Normalseren
- $3,9 \pm 5,5\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) Diuresehemmung gegenüber der Vorperiode
und für die 6 verdünnten Normalplasmen
+ $35,0 \pm 5,3\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) Diuresesteigerung gegenüber der Vorperiode.
 - b) Das unverdünnte Serum von 11 Versuchspersonen, die sich im Stadium der Volhard'schen Harnflut befanden, ergibt 1 Stunde nach Injektion den Mittelwert von
- $7,03 \pm 5,7\%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) Diuresehemmung gegenüber der Vorperiode.
 - c) Das Blut von Versuchspersonen nach 24 h strengem Dursten führt 1 Stunde nach Injektion zu dem Mittelwert von

- $18,48 \pm 5,5 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) Diuresehemmung gegenüber der Vorperiode für die 11 unverdünnten Seren und von
- + $32,2 \pm 9,6 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) Diuresesteigerung gegenüber der Vorperiode für die 1 : 1 verdünnten Plasmen.
- d) Die Blutproben von Schwangeren M. X zeigen für die 10 Seren 1 Stunde nach Injektion den Mittelwert von
 - $27,2 \pm 5,1 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) Diuresehemmung gegenüber der Vorperiode und für die sieben 1 : 1 verdünnten Plasmen
 - + $54,7 \pm 10,7 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) Diuresesteigerung gegenüber der Vorperiode.
- e) Unverdünntes Toxikoseserum von 8 Patientinnen hat 1 Stunde nach Injektion den Mittelwert von
 - $13,05 \pm 5,0 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) Diuresehemmung gegenüber der Vorperiode zur Folge, während das frische Plasma (1 : 1 verdünnt) von 6 Patientinnen 1 Stunde nach Injektion einen Mittelwert von
 - + $42,4 \pm 11,6 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) Diuresesteigerung gegenüber der Vorperiode zeigt, und das von 15 Patientinnen gelagerte (Kühltruhe) Plasma einen Mittelwert von
 - + $35,6 \pm 5,6 \%$ ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) Diuresesteigerung gegenüber der Vorperiode.

Von der Testflüssigkeit - Blutplasma oder Serum - wurden jeweils 0,5 ml pro 10 g Körpergewicht gespritzt.

Da bei allen Untersuchungen die Streuung der Einzelwerte viel zu groß war, ergab sich keine statistische Sicherung der Ergebnisse.

Der Schlußteil wird durch eine Literaturbesprechung eingeführt, die sich mit den verschiedenen Ansichten über eine mögliche ADH-Ausschüttung während der Schwangerschaft, den Schwangerschaftstoxikosen und den Volhard'schen Konzentrationsversuchen auseinandersetzt. Außerdem werden die eigenen Ergebnisse mit denen von Buchborn verglichen und dann werden die zu berücksichtigenden Fehlerquellen der durchgeführten Methode aufgezeigt. Mit einer Diskussion, die die Tauglichkeit der bisher existierenden Methoden für einen biologischen ADH-Nachweis im menschlichen Blut abhandelt, wird die Arbeit zum Abschluß gebracht.

Insgesamt läßt sich als Schlußfolgerung der dargelegten Untersuchungen festhalten:

Mit der Original-Methode nach Buchborn kann ein spezifischer Adiuretin-Nachweis im Blut von Normal-Schwangeren und von Toxikose-Patientinnen nicht geführt werden.

Die angewandte Erdkröten-Methode steht in Empfindlichkeit und Genauigkeit wesentlich hinter der verbesserten Ratten-Methode zurück.

Da auch mit der präziseren Ratten-Methode bisher noch kein Adiuretin-Nachweis gelungen ist, muß angenommen werden, daß der heutige Stand der Forschungsmethoden nicht ausreicht, um den tatsächlichen ADH-Gehalt des Blutes unter normalen und pathologischen Umständen zu erfassen.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) ANDERSON, B., Berliner Medizin (Organ für die gesamte praktische und theoretische Medizin), 8, 33, (1957)
- 2) ANSELMINO, K.J. und F. HOFFMANN, Kli. Wo. Nr.31, 1438 (1931)
- 3) ANSELMINO, K.J. und F. HOFFMANN, Kli. Wo. Nr.48, 1750 (1936)
- 4) BARGMANN, W., Kli. Wo. 27, 617 (1949)
- 5) BARGMANN, W., HILD, W., ORTMANN, R. und SCHIEBLER, Acta Neur., Bd.I, Heft 3-4, S.233 (1950)
- 6) BARTLETT, M.F., J. Amer. Chem. Sc. 78, 2905 (1956)
- 7) BARTTER, F.C. et al., J. Clin. Invest. 35, 1306 (1956)
- 8) BELLER, F.K. und GÖBELSMANN, U., Kli. Wo. Nr.36, 1005 (1958)
- 9) BERGER, E.Y. et al., J. Clin. Invest. 31, 451, (1952)
- 10) BILLENSTEIN, D.C., Endocrinology, 56, 704, (1955)
- 11) BIRNIE, J.H., Federat. Proc., 9, 12 (1950)
- 12) BIRNIE, J.H., Endocrinology, 47, 1 (1950)
- 13) BIRNIE, J.H., Endocrinology, 52, 33 (1953)
- 14) BIRNIE, J.H. et al., Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., 70, 83 (1949)
- 15) BISSET, G.W. und LEE, J., Lancet, 19, 770 (1957)
- 16) BISSET, G.W. und LEE, J., Lancet, 19, 1173 (1957)
- 17) BISSET, G.W. und LEE, J., Lancet, 20, 715 (1958)
- 18) BOUWDIJK BASTIAANSE VAN, M.A., triangel, 2, Nr.4, 138 (1956)
- 19) BUCHBORN, E., Zeitschrift f.d.ges.exper.Med., 125, 614 (1955)
- 20) BUCHBORN, E., Kli. Wo., Jg.34, Heft 35/36, 953 (1956)
- 21) BUCHBORN, E., Endocrinology, 61, 375 (1957)
- 22) BUCHBORN, E., Kli. Wo., Heft 14, 717 (1957)
- 23) BUCHBORN, E., Dt.Med.Wschr., 48, 2135 (1958)
- 24) BYROM, F.B. und WILSON, C., Quart.J.Med. 27, 361 (1934)
- 25) CARTNEY, C.P. et al., Am.J.Obstetr.Gynec., 63, 847 (1952)
- 26) CAVALLERO, C.E. et al., J.Endocr., 10, 228 (1954)
- 26a) CHALMERS, T.M. et al., J.Physiol., 112, 238 (1951)
- 27) CHAMBERS, G.H. et al., Amer.J.Physiol., 144, 311 (1945)
- 28) CONN, J.W., J.Labor a. Clin. Med., 45, 3 (1955)
- 29) CREARY, A.B., Am.J.Obstr.Gynec., 75, 1174 (1958)
- 30) DAVIS, J.O. und HOWELL, D.S., Endocrinology, 52, 245 (1953)
- 31) DETTELBACH, H. und HAROLD, R., Amer.J.Physiol., 192, 379 (1958)
- 32) DEXTER, D. und STONER, H.B., J.Physiol., 118, 486, (1952)
- 33) DICKER, S.E. und GINSBURG, M., Brit.J.Pharmacol.chemotherapy, 5, 497 (1950)

- 34) DICKER, S.E., J.Physiol., 122, 149 (1953)
- 35) DICKER, S.E., Ges.Ber.Gyn. (1957)
- 36) DICKER, S.E., J.Obstetr.Gyn.Brit.EMP. 63, 696 (1956)
- 37) DICKER, S.E., J.Physiol., 139, 108 (1957)
- 38) DIECKMANN, W.M.J., Am.J.Obstetr.Gyn., 60, 1043 (1950)
- 39) EISEN, V.D. und LEWIS, A.A.G., Lancet, Aug.21, 361 (1954)
- 40) EISENMENGER, W.J. et al., J.Clin.Invest., 29, 1494 (1950)
- 41) ESSER, H., SCHÄFER, E.L., Acta Neur., 1, 276 (1950)
- 42) EVERSOLE, W.J., BIRNIE, J.H., GAUNT, R., Endocrinology, 45,
378 (1949)
- 43) FINE, D. et al., J.Clin.Invest., 37, 232 (1958)
- 44) FRIEDBERG, V., VORHERR, H. und SCHULTE, G., Archiv f. Gyn.,
192, 483 (1960)
- 45) GAUNT, R., BIRNIE, J.H., EVERSOLE, W.J., Physiol.Rev. 29, 281
(1949)
- 46) GAUNT, R., Recent Progr.Horm.Res., 6, 247 (1951)
- 47) GAUNT, R. et al., Colston Symp., (1956)
- 48) GAUPP, jr., Acta Neur., 177, (1944)
- 49) GILBERT, G.J., Am.J.Physiol., 191, 243 (1957)
- 50) GILMAN, A. und GODMAN, L., J.Physiol., 90, 113 (1937)
- 51) GINSBURG, M., Brit.J.Pharm.Chemotherapy, 6, 411 (1951)
- 52) GINSBURG, M. und HELLER, H., J.Endocr., 9, 267 (1953)
- 53) GOMORI, G., Am.J.Path., 17 (1941)
- 54) GRECO, F. und WARDENER, H.E., J.Physiol., 131, 307 (1956)
- 55) GREEN, J.D. und HARRIS, G.W., J.Physiol., 108, 359 (1949)
- 56) GROSS, F., Kli. Wo., Heft 35/36, 929 (1956)
- 57) HAM, G.C., J.Clin.Invest., 20, 439 (1941)
- 58) HARGITAY, B. und KUHN, W., Z.Elektrochem., 55, 539 (1951)
- 59) HAWKER, R.W., J.Endocr., 14, 400 (1957)
- 60) HAWKER, R.W., Ges.Ber.Gyn., 61, 59 (1957)
- 61) HELLER, H., J.Physiol., 96, 337 (1939)
- 62) HELLER, H., Experientia, 6, 368 (1950)
- 63) HERKEN, H. et al., Archiv exper. Path.Pharmak., 230, 284 (1957)
- 64) HERKEN, H., Dt.Med.Wschr., 51, 2177 (1957)
- 65) HILD, W., TexasRep. Biol. Med., 12, 474 (1954)
- 66) HUGHES, E.C., LOYD, C.W. und JONES, D., J.Obstet.Gynec., 67,
782 (1954)
- 67) HURWITZ, D. und BULLOCK, L.T., Amer.J.med.Sci., 189, 613
(1935)

- 68) IRVING jr., G.W. und du VIGNEAUD, V., J. Biol. Chem., 123, 485 (1938)
- 69) JORES, A., Regensburger Jahrb. f. ärztl. Fortbildung, Bd.4, 2. Teillieferung (1955)
- 70) KAMM, O.T. et al., J. Amer. Chem. Sc., 505, 73 (1928)
- 71) KAMM, O.T. et al., J. Biol. Chem., 92, LXIX (1931)
- 72) KAUFMANN, G., Dt. Arch. Klin. Med., 200, 419 (1953)
- 73) KELSALL, A.R., J. Physiol., 112, 54 (1955)
- 74) KOELLA, W., Schweiz. Med. Wschr., Nr. 33, 785 (1951)
- 75) KRIEGER, V.J. und KILVINGTON, T.B., J. Clin. Endocr., 6, 320 (1946)
- 76) KUSCHINSKY et al., Arch. exper. Path. Pharmacol., 228, 434 (1956)
- 77) KUSCHINSKY et al., Arch. exper. Path. Pharmacol., 228, 578 (1956)
- 78) LEWIS, J. Clin. Endocr. Metab., 13, 769 (1953)
- 79) LEVITT, G., J. Clin. Invest., 15, 135 (1936)
- 80) MEDIZINISCHES PERISKOP INGELHEIM, 4, 24 (1954)
- 81) MIRSKY, A. et al., Endocrinology, 54, 491 (1954)
- 82) MIRSKY, A. et al., Endocrinology, 55, 28 (1955)
- 83) MORRISON, S.B. und MAYER, J., Amer. J. Physiol., 191, 248 (1957)
- 84) MORRISON, S.B. und MAYER, J., Amer. J. Physiol., 191, 255 (1957)
- 85) NIELS, A., THORN, M.D. und LAWRENCE, S., J. Exper. Med., 105, 557 (1957)
- 86) NIELS, A. und THORN, J. Exper. Med., 105, 585 (1957)
- 87) NOBLE, R.L. und TAYLOR, N.B.G., J. Physiol., 122, 220 (1953)
- 88) OLIVECRONA, H., Nature, 173, 1001 (1954)
- 89) ORTMANN, R., Ztschr. f. Zellforschung, 36, 92 (1951)
- 90) PATERSON, L., J. Obstet. Gynec. Brit. Emp., 61, 223 (1954)
- 91) PITTS, R.F., Josia Macy Foundation, Adrenal Cortex Transactions, 3rd Conference (1951)
- 92) POULSSEN, L.T., Z. exper. Med., 71, 577 (1930)
- 93) RALLI, E.P. et al., Clin. Invest., 24, 316 (1945)
- 94) RALLI, E.P., Amer. J. Physiol., 163, 141 (1950)
- 95) ROBINSON, K.W. et al., J. Clin. Endocr. Metab., 17, 320 (1957)
- 96) RODECK, H., Erg. Inn. Med. N.F., 6, 186 (1955)
- 97) ROMEIS, Handbuch der Mikroskop. Anatomie VI/3, (1943)
- 98) SCHARRER, E. und GAUPP jr., Acta Neur. 148, (1933)
- 99) SCHARRER, E., Z. Anat., 106, (1937)
- 100) SCHARRER, E. und B., Recent Progress Hormone Research, 10, 183 (1954)

- 101) SCHRÖDER, R. und ROTT, D., Kli.Wo., Heft 22, 1175 (1959)
- 102) SHORR, E. et al., Transactions Amer. Physicians, 63, 39 (1950)
- 103) SCHWARZKOPF, W., Dt.Med.Journ., Heft 10, (1958)
- 104) SIMPSON, S.A. et al., Experientia, 9, 333 (1953)
- 105) SLESSOR, H., J.Clin.Endocr.Metab., 11, 700 (1951)
- 106) SMITH, H.W., Bull. N.Y. Acad.Med., (1947)
- 107) SMITH, H.W., "The kidney" N.Y. Oxford Univ. Press (1951)
- 108) SMITH, H.W., "Principles Renal Physiol.", N.Y. Oxford (1956)
- 109) STARLING, E.H. und VERNEY, E.B., Proc.Roy.Sc., 97, 321 (1925)
- 110) TAUBERT, M., Habilitationsschr. Gießen (1954)
- 111) TAUBERT, M. und HENN, H., Ärztl.Forsch. XI. Jahrg., 186 (1957)
- 112) THEOBALD, G.W., "The Pregnancy Toxaemias", Chap.X, London (1955)
- 113) THORN, G.W. et al., New England J. Med., 248, 232 (1953)
- 114) THORN, G.W. und RENOLD, A.E., Helvet.med.Acta, 23 (1956)
- 115) THORN, N.A., Phys.Revue, 38, 169 (1958)
- 116) VERNEY, E.B., Lancet, 251, 739 (1946) I
- 117) " " Lancet, 251, 781 (1946) II
- 118) " " Proc.Roy.Sc., Ser.B, 135, 25 (1947)
- 119) " " Arch.exper.Path.Pharmakol., 205, 387 (1948)
- 120) " " Irish J.M.Sc., 6, 377 (1954)
- 121) du VIGNEAUD, V., J.Biol.Chem., 186, 77 (1950)
- 122) du VIGNEAUD, V. et al., J. Biol.Chem., 191, 21 (1951)
- 123) du VIGNEAUD, V. et al., J. Biol.Chem., 205, 133 (1953)
- 124) du VIGNEAUD, V. et al., J.Amer.Chem.Sc., 76, 4751 (1954)
- 125) VORHERR, H. und FRIEDBERG, V., Kli.Wo., Heft 22, 1171 (1959)
- 126) WALKER et al., Amer.J.Physiol., 134, 580 (1941)
- 127) WIRZ, H. et al., Helvet.Physiol.Pharmakol.Acta, 9, 196 (1951)
- 128) WIRZ, H. et al., Helvet.Physiol.Pharmakol.Acta, 11, 20 (1953)
- 129) WIRZ, H. et al., Helvet.Physiol.Pharmakol.Acta, 14, 353 (1956)
- 130) WHITE, A.E. et al., J.Clin.Invest., 30, 1287 (1951)
- 131) WOLFF, H.P. et al., Dt.Med.Wschr., 201, 250 (1958)
- 132) ZUSPAN, F.P. et al., Amer.J.Obstet.Gynec., 76, 619 (1958)

Ich möchte Herrn Professor Dr. med. V. Friedberg für die Übertragung des Themas, für seine verständnisvolle Förderung der Arbeit sowie für die großzügige Bereitstellung des erforderlichen Experimentmaterials danken.

LEBENS LAUF

Am 26. Dezember 1935 wurde ich als zweites von vier Kindern des Lehrers Hans Schulte und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Keller, in Simmern/Hunsrück geboren.

Von 1942 bis 1946 ging ich in Simmern zur Volksschule. Anschließend besuchte ich bis zur Reifeprüfung im Jahre 1955 das Staatliche Neusprachliche Gymnasium in Simmern.

Im Sommersemester 1955 immatrikulierte ich mich in der medizinischen und in der philosophischen Fakultät der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz. Im Anschluß an das Sommersemester 1957 bestand ich mein Physikum und blieb auch die drei folgenden klinischen Semester in Mainz. Danach studierte ich zwei Semester lang an der Universität Innsbruck. Zum Sommersemester 1960 bin ich wieder nach Mainz zurückgekehrt und habe dort im Frühjahr 1962 mein Studium mit dem med. Staatsexamen abgeschlossen.

